

**Untersuchungen  
über die Genotoxizität  
(Anaphaseaberrationstest)  
ausgewählter Pflanzenschutz-  
und Schädlingsbekämpfungsmittel  
unter Verwendung von Fischzellkulturen**

Ulrike Schweitzer

Disbui. München

1989





Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41554827\\_0025](https://archive.org/details/IA41554827_0025)



Aus dem Institut für Zoologie und Hydrobiologie  
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München  
Vorstände: Prof. Dr. M. Ruf und Prof. Dr. Dr. habil. W. Ahne

Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. Dr. habil. W. Ahne

Untersuchungen über die Genotoxizität (Anaphaseaberrationstest)  
ausgewählter Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel  
unter Verwendung von Fischzellkulturen

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
Ulrike Schweinzer  
aus  
Polsingen

München 1989

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Univ.-Prof. Dr. Dr.habil. W. Ahne

Korreferent: Priv.Do. Dr. Dr.habil. W. Rambeck

Tag der Promotion: 28. Juli 1989

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK GmbH  
8000 München 2, Gabelsbergerstr. 15, Tel. 288663

# INHALTSVERZEICHNIS

|      |                                           |     |
|------|-------------------------------------------|-----|
| 1.   | Einleitung                                | 1   |
| 2.   | Arbeitsverhältnisse                       | 2   |
| 3.   | Früherer Verlauf des Arbeitsverhältnisses | 3   |
| 4.   | Arbeitsvertrag                            | 4   |
| 5.   | Arbeitsvertragsgesetz                     | 5   |
| 6.   | Arbeitsvertragsgesetz                     | 6   |
| 7.   | Arbeitsvertragsgesetz                     | 7   |
| 8.   | Arbeitsvertragsgesetz                     | 8   |
| 9.   | Arbeitsvertragsgesetz                     | 9   |
| 10.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 10  |
| 11.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 11  |
| 12.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 12  |
| 13.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 13  |
| 14.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 14  |
| 15.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 15  |
| 16.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 16  |
| 17.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 17  |
| 18.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 18  |
| 19.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 19  |
| 20.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 20  |
| 21.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 21  |
| 22.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 22  |
| 23.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 23  |
| 24.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 24  |
| 25.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 25  |
| 26.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 26  |
| 27.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 27  |
| 28.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 28  |
| 29.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 29  |
| 30.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 30  |
| 31.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 31  |
| 32.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 32  |
| 33.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 33  |
| 34.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 34  |
| 35.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 35  |
| 36.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 36  |
| 37.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 37  |
| 38.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 38  |
| 39.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 39  |
| 40.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 40  |
| 41.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 41  |
| 42.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 42  |
| 43.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 43  |
| 44.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 44  |
| 45.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 45  |
| 46.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 46  |
| 47.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 47  |
| 48.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 48  |
| 49.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 49  |
| 50.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 50  |
| 51.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 51  |
| 52.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 52  |
| 53.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 53  |
| 54.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 54  |
| 55.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 55  |
| 56.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 56  |
| 57.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 57  |
| 58.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 58  |
| 59.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 59  |
| 60.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 60  |
| 61.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 61  |
| 62.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 62  |
| 63.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 63  |
| 64.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 64  |
| 65.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 65  |
| 66.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 66  |
| 67.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 67  |
| 68.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 68  |
| 69.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 69  |
| 70.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 70  |
| 71.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 71  |
| 72.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 72  |
| 73.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 73  |
| 74.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 74  |
| 75.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 75  |
| 76.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 76  |
| 77.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 77  |
| 78.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 78  |
| 79.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 79  |
| 80.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 80  |
| 81.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 81  |
| 82.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 82  |
| 83.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 83  |
| 84.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 84  |
| 85.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 85  |
| 86.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 86  |
| 87.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 87  |
| 88.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 88  |
| 89.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 89  |
| 90.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 90  |
| 91.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 91  |
| 92.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 92  |
| 93.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 93  |
| 94.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 94  |
| 95.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 95  |
| 96.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 96  |
| 97.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 97  |
| 98.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 98  |
| 99.  | Arbeitsvertragsgesetz                     | 99  |
| 100. | Arbeitsvertragsgesetz                     | 100 |

Für meinen Mann  
und meine Eltern



## Inhaltsverzeichnis

|                                                                                            | Seite |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 1. <u>Einleitung</u>                                                                       | 1     |
| 2. <u>Literaturübersicht</u>                                                               | 3     |
| 2.1. Fischzellkultur und Toxizitätstest                                                    | 3     |
| 2.2. Genotoxizität                                                                         | 6     |
| 2.2.1. Mutagenitätsprüfungen mit Bakterien                                                 | 8     |
| 2.2.2. Mutagenitätsprüfungen mit eukaryotischen<br>Mikroorganismen                         | 9     |
| 2.2.3. Mutagenitätsprüfungen bei Säugetieren                                               | 9     |
| 2.2.3.1. Messung der DNA Reparationssynthese<br>(unscheduled DNA synthesis)                | 9     |
| 2.2.3.2. Messung der DNA Fragmentation                                                     | 10    |
| 2.2.3.3. Messung der onkogenen Transformation                                              | 10    |
| 2.2.3.4. Messung der induzierten Punktmutation                                             | 11    |
| 2.2.3.5. Messung induzierter Keimbahndefekte                                               | 11    |
| 2.2.3.6. Zytogenetische Testverfahren                                                      | 12    |
| 2.2.4. Genotoxische Untersuchungen mit Fischen,<br>Fischzellen bzw. aquatischen Organismen | 14    |
| 2.2.4.1. Messung der DNA Reparationssynthese                                               | 14    |
| 2.2.4.2. Messung induzierter Punktmutation                                                 | 15    |
| 2.2.4.3. Zytogenetische Testverfahren                                                      | 15    |
| 2.3. Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel                                       | 18    |
| 2.4. Beschreibung der verwendeten Pflanzenschutz- und<br>Schädlingsbekämpfungsmittel       | 21    |

|      |                                                                                                                             |     |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.   | <u>Material und Methoden</u>                                                                                                | 72  |
| 3.1. | Zellkulturtechnik                                                                                                           | 72  |
| 3.2. | Zytotoxizitätstest                                                                                                          | 73  |
| 3.3. | Anaphaseaberrationstest                                                                                                     | 73  |
| 3.4. | Vortest mit den bekannten Mutagenen Mitomycin C<br>und Benzo(a)pyrene                                                       | 75  |
| 3.5. | Testsubstanzen                                                                                                              | 76  |
| 4.   | <u>Ergebnisse</u>                                                                                                           | 79  |
| 4.1. | Zytotoxizitätstest                                                                                                          | 79  |
| 4.2. | Ermittlung der Anaphaseaberrationsrate der mit<br>Lösungsmittel (dest. Wasser) und mit Mitomycin C<br>behandelten R1-Zellen | 81  |
| 4.3. | Vorteste mit Benzo(a)pyrene und Mitomycin C                                                                                 | 82  |
| 4.4. | Ergebnisse des Anaphaseaberrationstestes mit den<br>verwendeten Testsubstanzen                                              | 85  |
| 4.5. | Dosis-Wirkungsbeziehung der im Anaphaseaberrations-<br>test positiv reagierenden Substanzen                                 | 89  |
| 4.6. | Vorkommen verschiedener Anaphaseaberrationsformen                                                                           | 104 |
| 5.   | <u>Diskussion</u>                                                                                                           | 108 |
| 6.   | <u>Zusammenfassung/Summary</u>                                                                                              | 121 |
| 7.   | <u>Literaturverzeichnis</u>                                                                                                 | 123 |

## 1. Einleitung

Pflanzenbehandlungsmittel belasten zunehmend Oberflächen- und Trinkwasser (Baier et al., 1985). Um die Risiken von Rückständen der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel in Gewässern abschätzen zu können, werden neben der Untersuchung von akuter toxischer Wirkung der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel in jüngster Zeit auch zusätzliche Untersuchungen zur Bestimmung der chronischen Toxizität, der Mutagenität, der Teratogenität, der Kanzerogenität u.a. gefordert (Trenel, 1984). Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Genotoxizität ausgewählter Pflanzenbehandlungsmittel, deren Rückstände in Gewässern bisher nachgewiesen wurden (Baier et al., 1985). Verschiedene Testsysteme zur Untersuchung der genotoxischen Wirkung dieser Substanzgruppe, z.B. der Amestest (Moriya et al., 1983), der Schwesterchromatidaustausch (Turkula und Jalal, 1985), die Messung der DNA-Reparationssynthese (Ahmed et al., 1977), der Mikronukleustest (Jenssen und Ranel, 1980), Messung von Chromosomenaberrationen in der Metaphase (Georgian et al., 1983) wurden bisher eingesetzt. Meist finden bei diesen Testsystemen Bakterien, Pilze oder Säugetierzellkulturen sowie Mäuse und Ratten bei der In-Vivo Testung Verwendung. Der Einsatz von aquatischen Organismen bzw. deren Zellkulturen erfolgte bisher nur zur Untersuchung von Wasserproben auf Mutagenität (Müllerschön und Miltenburger, 1988; Lehmann, 1984; Das und Nanda, 1986; Kocan et al., 1985).

Der in der vorliegenden Arbeit verwendete Anaphaseaberrationstest wurde erstmals mit einer Forellenleberzellkultur (R1-Zellen; Ahne, 1985) durchgeführt. Schon 1972 wurde der Anaphaseaberrationstest vom Ad Hoc Committee of the Environmental

Mutagen Society and The Institut for Medical Research als Testsystem zur Erkennung von Mutagenen vorgestellt. Kocan (1982) verwendete für dieses Testsystem erstmals Fischzellkulturen (Forellengonadenzellen, RTG-2-Zellen).

In der vorliegenden Arbeit wurden folgende, in Gewässern ermittelten Stoffe, auf ihre Genotoxizität untersucht: Alachlor, Atrazin, Carbofuran, Cyanazin, 2,4-D, Dicamba, Dimethoat, Hexachlorbenzol, Lindan, Linuron, Metolachlor, Metoxuron, Metribuzin, Pentachlorphenol, 4-Chloranilin.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1. Fischzellkultur und Toxizitätstest

Einen wichtigen Faktor zur Messung der Toxizität gewässerbelastender Substanzen stellen neben anderen Testsystemen neuerdings auch Fischzellkulturen dar. In zunehmendem Maße wurde in den letzten Jahren versucht, geeignete Testverfahren mit Fischzellen zu entwickeln (Babich und Borenfreund, 1987). Sowohl die Prüfung der Toxizität bekannter Substanzen, als auch die Beurteilung des toxischen Potentials von Abwässern wird heute vielfach mit Fischzellkulturen durchgeführt. Verwendung finden hierbei Primärzellkulturen, welche die jeweiligen Charakteristika der Stammgewebe besitzen, aber eine begrenzte Lebensdauer haben (Greim, 1980; Stammati, 1981; Shopsis, 1985) und etablierte Zelllinien, die zwar meistens unbegrenzt subkultiviert werden können, jedoch die ursprünglichen Zellcharakteristika nicht mehr besitzen und die epitheliale oder fibroblastenähnliche Morphologien aufweisen (Wolf und Mann, 1980). Im Vergleich zum Tierversuch können Toxizitätsteste mit isolierten Systemen unter standardisierten Bedingungen, unabhängig von äußeren Faktoren wie Jahreszeit, Klima usw., und unter Ausschaltung von Krankheitserregern sowie von Einflüssen bedingt durch physiologische und genetische Variabilität der Versuchstiere durchgeführt werden.

Beim Toxizitätstest mit Fischzellkulturen können u.a. folgende Parameter zur Beurteilung der toxischen Wirkung von Substanzen und Wasserinhaltsstoffen herangezogen werden:



- Aufnahme von Farbstoffen durch die Zelle, was im positiven Fall sowohl ein Anzeichen für die Membranschädigung, z.B. bei der Trypanblaufärbung (Stammati, 1981; Ahne, 1985), als auch ein Kennzeichen für die intakte Zellmembran, z.B. bei der Neutralrotfärbung, sein kann (Babich et al., 1986 ; Babich und Borenfreund, 1987).
- Messung der Freisetzung verschiedener zellulärer Enzyme, z.B. Laktatdehydrogenase (Ahne, 1985).
- Populationswachstum, gemessen an der Aufnahme bzw. Abgabe radioaktiv markierter Chemikalien (Babich et al., 1986).
- Ermittlung der Proliferation von Zellen. Kocan et al. (1985) ermittelten z.B. die Zellzahl nach 96-stündigem Wachstum der Kulturen und verwendeten hierzu einen elektronischen Partikelzähler.
- Lichtmikroskopische Befunde, wobei Zellmorphologie und Koloniebildung die Beurteilungskriterien darstellen (Ahne, 1985; Bols et al., 1985).
- Ultrahistologie durch elektronenmikroskopische Beurteilung der Zellstrukturen (Mayer et al., 1988).

Vergleiche zwischen Zytotoxizität in vitro und akuter Toxizität in vivo wurden von Ahne (1985), Bols et al. (1985) sowie Babich und Borenfreund (1987) angestellt mit dem Ergebnis, daß größtenteils zwischen beiden Testsystemen Übereinstimmung bestand, teilweise erwiesen sich die Fischzellen sogar als sensitiver (Ahne, 1985). Bestandteil einiger Arbeiten war auch die Vergleichbarkeit der Reaktionen von Fischzelllinien untereinander (Kocan et al., 1979) und Säugetierzelllinien auf toxische Substanzen. Eine umfassende Übersicht der bisher zu diesem Thema veröffentlichten Arbeiten findet sich bei Babich und Borenfreund (1987).

Die vorliegende Arbeit wurde mit R1-Zellen (Forellenieberzellen) durchgeführt (Ahne, 1985). Eine Untersuchung zur genaueren Morphologie dieser Zelllinie, welche auch elektronenmikroskopische Studien beinhaltete, führte aufgrund des Fehlens von typischen Merkmalen der Hepatozyten zur Annahme, daß die R1-Zelllinie aus Fibroblasten der Leber besteht (Mayer et al., 1988). Diese 1982 etablierte Zelllinie fand bereits Verwendung bei verschiedenen Toxizitätsbestimmungen (Ahne, 1985 ; Mayer et al., 1988).

Da viele Agentien sowohl mutagene als auch toxische Effekte induzieren, ist eine Abgrenzung des genotoxischen Bereiches von dem toxischen Bereich nötig (Gebhart, 1977). Um dieser Forderung gerecht zu werden, wurde in vorliegender Arbeit der Zytotoxizitätstest nach Ahne (1985) und der Genotoxizitätstest nach Kocan et al. (1982) angewandt.

## 2.2. Genotoxizität

Durch die Genotoxizität werden Substanzen ermittelt, welche direkt an der Erbsubstanz lebender Organismen angreifen (Brusick, 1980). Um eine klare Abgrenzung der Begriffe Karzinogenität, Mutagenität und Teratogenität zu geben, soll eine Definition (nach Saleh, 1980) folgen.

- Als mutagen werden Substanzen bezeichnet, die vererbare Veränderungen des genetischen Materials verursachen.
- Teratogene Stoffe verursachen einen Anstieg der Mißgeburtenrate.
- Kanzerogene Agentien bewirken ein erhöhtes Auftreten von Tumoren in multizellulären Organismen.

In neuerer Zeit wird deutlich, daß die Begriffe Kanzerogenität und Mutagenität anscheinend ähnliche biochemische Grundlagen besitzen (Saleh, 1980). Zahlreiche Testsysteme zur Messung der Genotoxizität sowohl in vivo als auch in vitro wurden seit circa 20 Jahren entwickelt. Zum besseren Verständnis sollen hier kurz die bei Mutagenitätsprüfungen wesentlichen Mutationstypen (nach Gebhart, 1977) beschrieben werden:

### a) Punktmutationen

- Basentransitionen, Austausch einzelner Basen.
- Frame-Shift-Mutationen, durch Ausfall bzw. Einschub einzelner Basen verschiebt sich der Ableseraster d.h. von der betreffenden Stelle an werden die Basentriplets verschoben und in die entsprechend "falsche" Aminosäuresequenz übersetzt.

## b) Chromosomenmutationen

- Gaps, färberische Lücken in einer oder beiden Chromatiden ohne Dislokation.
- Chromosomenbrüche, echte Diskontinuitäten einer oder beider Chromatiden mit deutlicher Dislokation der Bruchstücke.
- Translokationen, Austausch von Chromosomenabschnitten innerhalb eines Chromosoms (Intrachange) oder zwischen zwei oder mehreren Chromosomen (Interchange). Folgen sind Chromatidringe, Translokationskreuze, Ringchromosomen, dizentrische Chromosomen oder atypische Translokationschromosomen.

## c) Genommutationen

Bei Genommutationen handelt es sich um Veränderungen der Chromosomenzahl (Heteroploidie).

- Aneuploidie, um einzelne Chromosomen veränderte Chromosomenzahl, entstanden durch Nichttrennung der Schwesterchromatiden in der Mitose (Non-disgression) bzw. der homologen Chromosomen in der Meiose (Non-disjunction).
- Euploidie, um ganze Chromosomensätze veränderte Chromosomenzahl.

Da die Aufzählung aller Mutagenitätstestsysteme den Rahmen dieser Arbeit sprengen würde, wird im folgenden der Schwerpunkt auf die wichtigsten derzeit gebräuchlichsten Kurzzeittests gelegt (insbesondere im Hinblick auf die angewandten Methoden in vorliegender Arbeit).

### 2.2.1. Mutagenitätsprüfungen mit Bakterien

Im Prinzip beruhen die genotoxischen Wirkungen mikrobieller Testsysteme meist auf Basenpaarsubstitutionen oder Frame-Shift-Mutationen, welche zu Rückwärtsmutationen bei auxotrophen Bakterienstämmen führen, was wiederum ein Wachstum mutierter Bakterienstämme in selektivem Medium ermöglicht (Gebhart, 1977). Häufig angewandt wird ein von Ames entwickelter Test mit histaminauxotrophen Bakterienstämmen von Salmonella typhimurium, wobei die Möglichkeit der metabolischen Aktivierung der Testsubstanz über eine Lebermikrosomenfraktion entscheidende Bedeutung besitzt (Ames, 1975). Auf ähnlichen Prinzipien basieren Tests mit Escherichia coli bzw. Bacillus subtilis (Tanooka, 1977; Green, 1984; Mohn et al., 1984; ). Auch Systeme beruhend auf Vorwärtsmutation finden Verwendung z.B. Erzeugung von 8-azaguanin resistenten Mutanten bei Salmonella typhimurium (Skopek, 1978) oder der Sporulationstest bei Bacillus subtilis (MacGregor und Sacks, 1976).

Eine Methode den Metabolismus der Säugetiere in das Testsystem miteinzuschließen stellt der Host-mediated assay dar. Hier wird einem Versuchstier zuerst der bakterielle Teststamm injiziert, anschließend erfolgt die Applikation der Testsubstanz. Nach Rückgewinnung des Bakterienstammes erfolgt die Weiterverarbeitung nach der oben beschriebenen Weise (Mohn, et al., 1984). Dieses Testsystem beschränkt sich nicht nur auf Bakterien, sondern kann in der gleichen Weise auch mit Säugetierzellen oder Pilzen durchgeführt werden, ebenso kann das Testmaterial in den Peritonealraum, in das Blut oder in den gastrointestinalen Raum der Versuchstiere verabreicht werden (Connor und Legator, 1984).

### 2.2.2. Mutagenitätsprüfungen mit eukaryotischen Mikroorganismen

Drei Pilzstämme werden bevorzugt in der Mutagenitätsforschung eingesetzt: Saccharomyces cerevisiae, Aspergillus nidulans und Neurospora crassa. Zusätzlich zu Vorwärts- und Rückwärtsmutationen können mit diploiden Pilzstämmen chemisch induzierte mitotische Rekombinationsvorgänge, Genkonversion und mitotische Nichttrennung von Chromosomen erfasst werden (Hollstein und McCann, 1979; Zimmermann, 1984). Zum Beispiel zeigt der Stamm D 3 von Saccharomyces cerevisiae chemisch induzierbare mitotische Rekombination, bei welcher ein reziproker Austausch zwischen homologen Chromosomen stattfindet, was zur Farbveränderung der Kolonien führt (Zimmermann, 1984). Stamm D 4 zeigt nach chemisch induzierter Genkonversion mutierte Kolonien, welche auf die Zugabe von Adenin bzw. Tryptophan zum Medium nicht mehr angewiesen sind (Zimmermann, 1975). Weitere Arbeiten mit Stämmen von Saccharomyces cerevisiae, Aspergillus nidulans und Neurospora crassa, basierend auf oben genannten Prinzipien, finden sich bei Hollstein und McCann (1979).

### 2.2.3. Mutagenitätsprüfungen bei Säugetieren

#### 2.2.3.1. Messung der DNA Reparatur-synthese (unscheduled DNA synthesis)

Dieser Test beruht auf der Fähigkeit bestimmter chemischer Substanzen die DNA-Synthese bei Zellen in Kultur zu induzieren. Gemessen wird dies autoradiographisch anhand der Menge eingebauter radioaktiv markierter Nukleoside (meist Thymidin) bei

Testzellen, deren normale DNA-Synthese gehemmt wurde. San und Stich (1975) beschreiben diese Technik für kultivierte menschliche Fibroblasten. Weitere Verwendung findet dieser Test mit Nagetierzellen (Williams, 1977) und auch im In-Vivo-Test mit Nagetieren, bei welchen nach vorheriger Injektion von radioaktiv markiertem Thymidin, Spermatozyten isoliert und die DNA Reparationssynthese bestimmt wurde (Sega et al., 1976).

#### 2.2.3.2. Messung der DNA Fragmentation

Durch Strangbrüche der DNA entstehen Veränderungen bezüglich deren Molekulargewichtes. Wird radioaktiv oder mit Fluoreszenzfarbstoffen markierte DNA gefiltert, so erscheinen kleine Bruchstücke in der ersten Fraktion, während größere Bestandteile in den nachfolgenden Fraktionen auftauchen oder im Filter zurückbleiben (Alkaline elution assay). Mutagene Substanzen erhöhen den Anteil der DNA in der ersten Fraktion (Bradley, 1984). Eine weitere Möglichkeit der Ermittlung von DNA-Strangbrüchen besteht in der Sucrose-Gradienten Zentrifugation (Hollstein und McCann, 1979).

#### 2.2.3.3. Messung der onkogenen Transformation

Hierbei handelt es sich um mutagen-induzierte Transformation von Zellen in maligne Zellen. Diese können auf Versuchstiere übertragen werden bzw. auf Softagar zur Untersuchung der Koloniebildung verbracht werden (Waters, 1980).

#### 2.2.3.4. Messung der induzierten Punktmutation

Ähnlich wie bei derartigen Tests mit Bakterien und Pilzen werden verschiedene Marker herangezogen, welche mit Hilfe selektiver Analysemethoden mutierte Zellen erfassen. Ein standardisiertes, gebräuchliches Testverfahren stellt der HGPRT-Test dar. Die Abkürzung HGPRT steht für das Enzym Hypoxanthin-guanin-phosphoribosyl-transferase, bei dessen Ausfall Mutanten mit Resistenz gegenüber Purinanaloga (normalerweise 8-azaguanin oder 6-thioguanin) selektiert werden (Jenssen, 1984). Ebenso funktioniert der TK-(Thymidin-Kinase)Test, welcher Mutanten erfasst, die resistent gegenüber Pyrimidinanaloga (meist BUdR oder Trifluorothymidin) sind (Hollstein und McCann, 1979). Auch Quabainresistenz von Mutanten wird in Prüfungsverfahren eingesetzt (Hollstein und McCann, 1979). Häufig finden Nagetierzellkulturen, aber auch menschliche Zellkulturen z.B. Fibroblasten (Jacobs und DeMars, 1984) oder Lymphozyten (Albertini und Sylwester, 1984) Verwendung.

#### 2.2.3.5. Messung induzierter Keimbahndefekte

Diese Gruppe der Mutagenitätsteste beinhaltet meist In-Vivo-Versuche mit Nagetieren. Auch die mikroskopische Untersuchung von geeigneten Zellteilungsstadien der Keimzellbildung oder die Beobachtung der Embryonalentwicklung gehören hierzu (Gebhart, 1977). Ebenso ist der Spermmorphologietest hier zu nennen (Wyrobek, 1984). Auswertungskriterien bei der mikroskopischen Erfassung von verschiedenen Stadien der Keimzellentwicklung sind die induzierten Chromosomenaberrationen (Gebhart, 1977).

Beim "Dominant Letal Test" werden Mäuse mit dem Testagens behandelt, miteinander verpaart und der Embryonenverlust wird anhand der Differenz der Corpora lutea oder der Molen (nach Absterben des Embryos zurückbleibende Deciduumreste) und der Zahl der implantierten, lebenden Früchte bestimmt (Bateman, 1984).

Spezifische Punktmutationen können durch den Fellfleckentest und den "Specific Locus Test" erfasst werden. Der "Specific Locus Test" untersucht Veränderungen spezifisch phänotypischer Merkmale z.B. Augenfarbe, Fellfarbe bei den Nachkommen mutagenbehandelter Mäuse (Searle, 1984). Im Fellfleckentest werden Mäuseembryonen intrauterin der Testsubstanz ausgesetzt und nach drei Wochen auf gefleckte Fellfärbung untersucht, was auf lokal begrenzte Mutation von Melanozyten zurückzuführen ist (Russel, 1984).

#### 2.2.3.6. Zytogenetische Testverfahren

Durchgeführt werden zytogenetische Prüfungen an Testzellen, welche eine hohe Teilungsaktivität aufweisen z.B. Knochenmarkszellen (Gebhart, 1977) oder Lymphozyten (Moorhead, 1960). Untersuchungsparameter sind chemisch induzierte Chromosomen- oder Genommutationen. Zytogenetische Testverfahren können sowohl in vivo als auch in vitro angewandt werden. Folgende Verfahren finden bei zytogenetischen Mutagenitätsstudien Verwendung:

a) Metaphasepräparation mit konventionell gefärbten und gebänderten Chromosomen (Nichols, 1984). Zur Arretierung der Chromosomen in der Metaphase ist hierbei die Anwendung eines Mitosegiftes (meist Colchizin), sowie die hypotone Behandlung der Zellen zur Ausbreitung der einzelnen Chromosomen nötig. Besonders gut eignen sich hierzu Zellen mit relativ geringen Chromosomenzahlen (z.B. Nagetierzellen), (Gebhart, 1977; Hollstein und McCann, 1979).

b) Mikronukleustest. Mikronuklei entstehen in der Anaphase durch verzögert auseinanderweichende Chromosomen bzw. deren Fragmentbildung. Diese Chromatinteile werden auf die Tochterzellen verteilt, wo sie mit dem Kern verschmelzen oder eigenständige Kleinkerne ("Mikronuklei") bilden (Schmid, 1982).

c) Schwester-Chromatidaustausch. Erhöhte Austauschraten der Schwesterchromatiden werden als Anzeichen für eine Mutagenität einer Substanz angesehen und diese können durch spezielle Färbemethoden mit Hilfe vorheriger Markierung der Chromatiden, meist mit BUdR (5-bromodeoxyuridin, Thymidinanalogon) erfasst werden (Latt et al., 1982; Perry, 1984). Sowohl In-Vitro-Teste z.B. mit Lymphozyten oder Zelllinien, als auch In-Vivo-Teste finden Anwendung.

d) Anaphaseaberrationstest. Im Gegensatz zur Metaphasepräparation kann die Auswertung des Anaphasenaberrationstestes direkt am gefärbten Präparat erfolgen. Anwendung eines Mitosegiftes, hypotone Behandlung, sowie zeitintensives Aufsuchen der einzelnen Chromosomen entfallen. Mit dem Anaphaseaberrationstest können folgende Aberrationen ermittelt werden:

- Brückenbildung zwischen den auseinanderweichenden Chromosomenhälften, infolge Nichttrennung einzelner Chromatiden.

- Chromosomenbruchstücke (Fragmente), welche ohne eigenen Spindelansatzpunkt nicht auf die Tochterzellen verteilt werden.
- verzögert auseinanderweichende Chromosomen.
- mehrpolige Anaphasen, was auf gestörte Spindelfunktion zurückzuführen ist.

Ausgewertet werden die Präparate lichtmikroskopisch nach unterschiedlich langer Behandlung mit der Testsubstanz, wobei mindestens 200 Anaphasen erfasst werden sollten (William und Hsu, 1982; Kligermann, 1982; Nichols, 1984; ). Dieses Testsystem wurde in vorliegender Arbeit verwendet.

#### 2.2.4. Genotoxische Untersuchungen mit Fischen, Fischzellen bzw. aquatischen Organismen.

Verwendung fanden bisher Froschlarven (Müllerschön und Miltenburger, 1988), Miesmuscheln (Lehmann, 1984) und Wassermolchlarven (Jaylet et al., 1987) bei der Untersuchung von Wasserproben auf Mutagenität. Mutagenitätsprüfungen mit Fischen bzw. Fischzelllinien sollen im Folgenden vorgestellt werden.

##### 2.2.4.1. Messung der DNA Reparationssynthese

Die "Unscheduled DNA Synthese" (UDS) wurde bisher bei einer Goldfischzelllinie von Mano et al. (1980) und von Mitani und Egami (1982) beschrieben.

#### 2.2.4.2. Messung induzierter Punktmutationen

Analog zu gleichartigen Tests mit Säugetierzellen wird hierbei das Quabain als selektives Agens eingesetzt (Kocan et al., 1981). Verwendung fanden bisher BF-2 (Bluegill Fry) Zellen (Kocan et al., 1981). Weitere Fischzellkulturen, welche bisher verwendet wurden, sind bei Landolt und Kocan (1983) aufgelistet.

#### 2.2.4.3. Zytogenetische Testverfahren

Ein Modellsystem zur Erfassung mutagener Substanzen in vivo wurde von Kligermann (1982) aufgestellt, der Fische der Art Umbra limi verwendete und zytogenetische Studien an Niere, Eingeweiden und Kiemen vornahm, wobei Metaphasechromosomen und der Schwesterchromatidaustausch untersucht wurden. Fische mit hohen Chromosomenzahlen eignen sich laut Kligermann nicht zu Metaphasepräparation und -auswertung. Auch andere Autoren beschreiben den Schwesterchromatidaustausch, wobei größtenteils In-Vivo-Tests (Kligermann, 1981), z.T. aber auch In-Vitro-Untersuchungen (Barker und Rackham, 1979) durchgeführt wurden. Mikronukleusbildung wurde in vivo mit Erythrozyten von Fischen der Art Umbra pygmaea (Hooftmann und de Raat, 1982; Jaylet, 1986) getestet.

Chemisch induzierte Anaphasenaberrationen wurden in vivo (Tab.2) an Fischen der Art Salmo irideus und Coregonus peled (Landolt und Kocan, 1983) untersucht. Hose et al. (1982) erfassten zusätzlich Mikronukleusbildung und Entwicklungsstörungen von Embryonen der Art Parophrys vetulus. Liguori und Landolt (1985) verwendeten Embryos der Art Salmo gairdneri. In-Vitro-Studien mit verschiedenen mutagenen Substanzen zur Erfassung von

Anaphaseaberrationen führten Kocan et al. (1982, 1985) mit RTG-2 Zellen (Gonadenzellen der Regenbogenforelle) durch (Tab.1). Die Anwendung des Anaphaseaberrationstestes mit R1 Zellen (Forellenleberzellkulturen), (Ahne 1985) erfolgte erstmals in dieser Arbeit.

Tab.1

Auflistung der bisher verwendeten In-Vitro Short-Term Mutagenitätsteste mit Fischzellkulturen:

| Testsystem                        | Zellkultur                    | Quelle                 |
|-----------------------------------|-------------------------------|------------------------|
| -----                             |                               |                        |
| Unscheduled DNA Synthese          | Goldfischzelllinie<br>CAF-MM1 | Mitani und Egami, 1982 |
|                                   | Goldfischzelllinie            | Mano et al., 1980      |
| -----                             |                               |                        |
| Messung induzierter Punktmutation | BF-2                          | Kocan et al., 1981     |
| -----                             |                               |                        |
| Zytogenetische Testverfahren      |                               |                        |
| - Anaphase-aberrationstest        | RTG-2                         | Kocan et al., 1985     |
|                                   | RTG-2                         | Kocan und Powell, 1985 |
|                                   | RTG-2, BF-2                   | Kocan et al., 1982     |
|                                   | RTG-2                         | Landolt, Kocan, 1984   |
| - Schwesterchromatid-austausch    | Zellkultur von                | Barker und Rackham,    |
|                                   | <u>Ameca splendens</u>        | 1979                   |
| -----                             |                               |                        |

Tab.2

Auflistung der bisher verwendeten In-Vivo Short-TermMutagenitätsteste mit Fischen:

| Testsystem                       | Art                      | Quelle                     |
|----------------------------------|--------------------------|----------------------------|
| -----                            |                          |                            |
| Anaphaseaberrations-<br>test     | <u>Salmo gairdneri</u>   | Ligouri, Landolt, 1985     |
|                                  | <u>Parophrys vetulus</u> | Hose et al., 1982          |
| -----                            |                          |                            |
| Schwesterchromatid-<br>austausch | <u>Umbra limi</u>        | Kligermann, 1981           |
|                                  | <u>Umbra limi</u>        | Kligermann, 1982           |
| -----                            |                          |                            |
| Mikronukleustest                 | <u>Umbra pygmaea</u>     | Hoofmann, de Raat,<br>1982 |
|                                  | <u>Cyprinus carpio</u>   | Jaylet, 1986               |
| -----                            |                          |                            |
| Metaphasepräparation             | <u>Umbra limi</u>        | Kligermann, 1982           |
|                                  | <u>Parophrys vetulus</u> | Hose et al., 1982          |
| -----                            |                          |                            |

### 2.3. Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel

Funktionell unterscheidet man Herbizide und je nach Bekämpfung der Schädlingsart Insektizide, Rodentizide, Akarizide, Nematozide, Molluskizide, Fungizide, Larvizide, Ovizide, Ovolarvizide sowie Präparate und Substanzen für spezielle Zwecke z.B. Repellentia, die durch ihren abstoßenden Geruch wirken, Synergisten (Substanzen, die in Kombination höhere Wirksamkeit zeigen) und Wuchs- und Hemmstoffe (Quentin et al., 1987). Die Gesamtmenge der ausgebrachten Pestizide in der BRD betrug 1984 32 Tausend Tonnen, davon 62,3% Herbizide, 23,6% Fungizide, 6,4% Insektizide und 7,7% Sonstige (Meinert und Häfner, 1987). Etwa 1800 Pflanzenschutzmittel sind zur Zeit in der BRD im Handel (Baier et al., 1985) mit 296 von der Biologischen Bundesanstalt zugelassenen Wirkstoffen (Stand 1984, Quentin et al., 1987). Sie werden in natürlich vorkommende Mittel (aus Pflanzen, Bakterien, Pilzen) und synthetische Mittel eingeteilt. Letztere werden wiederum unterteilt in anorganische und organische Wirkstoffe. Bei organischen Wirkstoffen unterscheidet man zusätzlich noch folgende Substanzgruppen (in Klammer: Aufzählung der in der Arbeit verwendeten Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel):

- Organochlorverbindungen (Lindan, Hexachlorbenzol)
- Organophosphorverbindungen (Dimethoat)
- Carbamate (Carbofuran)
- Carbonsäurederivate: Phenoxyalkancarbonsäuren (2,4 D, Dicamba)

Derivate aliphatischer Carbonsäuren

- Harnstoffverbindungen (Linuron, Metoxuron)
- Triazinderivate (Atrazin, Metribuzin, Cyanazin)
- Chlorierte Phenole (Pentachlorphenol)
- Anilide (Alachlor, Metolachlor)
- Amide, heterocyclische Verbindungen, Nitroverbindungen.

Die bisher bekannten Wirkungsmechanismen werden bei der Beschreibung der einzelnen Pestizide genannt ( siehe ab Seite 21).

Ins Grundwasser gelangen Pflanzenschutzmittel hauptsächlich durch Versickerungsvorgänge im Boden. Viele Faktoren z.B. Ad- und Desorptionsverhalten, Abbauverhalten, Bodenstruktur, Witterung u.a. beeinflussen diesen Vorgang (Baier et.al., 1985).

Die zulässige Höchstkonzentration für Pflanzenschutzmittel im Wasser für den menschlichen Gebrauch beträgt laut EG-Richtlinie 0,1 Mikrogramm/l je Wirkstoff und 0,5 Mikrogramm/l Gesamtwirkstoffkonzentration bei Vorkommen mehrerer Substanzen (Braun et al., 1987).

Die Verunreinigung von Oberflächengewässern geschieht gezielt z.B. durch die Wasserpflanzenbekämpfung, durch die Bekämpfung von Insektenlarven im Wasser bzw. unbeabsichtigt z.B. durch Spritznebel, Niederschlagswasser oder Unglücksfälle (Baier u.a., 1985). Die größte Kontaminationsgefahr jedoch stellt die Abschwemmung ("run-off") von Pflanzenschutzmitteln in hängigem Gelände dar. Hierbei gilt (nach Baier u.a., 1985)

- in hängigem Gelände findet immer eine Abschwemmung statt,
- die Menge der abgeschwemmten Pflanzenschutzmittel ist von deren Art unabhängig,
- je rascher nach Austrag der Niederschlag erfolgt, desto größer die abgeschwemmte Menge an Wirkstoffen,
- der Hauptteil der abgeschwemmten Substanz findet sich im abfließenden Wasser.

Für zahlreiche Pestizide wurde in den USA das Abschwemmverhalten untersucht und festgestellt, daß größtenteils der Verlust von Pestiziden bei circa 0,5-5% der aufgebrachten Menge lag (Wauchope, 1978).

Erst in den letzten Jahren wird dem mutagenen und kanzerogenen Potential dieser Wasserinhaltsstoffe Aufmerksamkeit gewidmet (Müllerschön und Miltenburger, 1988; van Kreijl et al., 1980). Zur Bewertung von wassergefährdenden Stoffen sind meist Toxizitätstests (z.B. Säugetier-, Bakterien-, Fischtoxizitätstests) gebräuchlich, die jedoch nicht alle Risikobereiche abdecken. Eines der neuesten Testsysteme wurde von Wiegand-Rosinus et al. (1988) entwickelt und mißt die Hemmung der Aldehyddehydrogenase durch Pestizide in vitro. Nach Trenel (1984) sollten aber zusätzlich die chronische Toxizität, die Kanzerogenität, die Mutagenität, die Teratogenität, die Bioakkumulation u.a. Parameter untersucht werden.

## 2.4. Beschreibung der verwendeten Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel

Die nachfolgenden Daten wurden größtenteils der Datensammlung von Baier u.a. (1985) entnommen. Bei allen übrigen Angaben ist die Quelle im Text vermerkt.

### Alachlor

#### Eigenschaften und Wirkungsweise

|                        |                                                     |
|------------------------|-----------------------------------------------------|
| Common name:           | Alachlor                                            |
| Chemische Bezeichnung: | 2-Chlor-2',6'-diäthyl-N-(methoxy-methyl)-acetanilid |
| Summenformel:          | $C_{14}H_{20}ClNO_2$                                |
| Molare Masse           | 269,77                                              |
| Schmelzpunkt:          | 39,5-41,5 °C                                        |
| Dampfdruck:            | 2.9 Mikropascal 25 °C                               |
| Wasserlöslichkeit:     | 242 mg/l bei 25 °C                                  |

Bei Alachlor handelt es sich um ein Herbizid, welches das Wurzelwachstum hemmt, vermutlich durch Eingreifen in die Proteinsynthese. Bei Hafer fand eine Hemmung der Zellteilung der Wurzeln nach 30stündiger Behandlung mit 1 micromol statt (Hess, 1982). Anwendungsgebiete: Mais, Winterraps, Gemüsekohl.

#### Persistenz im Boden

50% Rückstand nach 8 Tagen (sandig-toniger Lehm), 2-12% Rückstand nach 12 Monaten (schluffiger Ton).

Wirkung auf aquatische Organismen

Salmo LC<sub>50</sub>(96h): 2,4 mg/l

gairdneri LC<sub>50</sub>(96h): 1,4 mg/l

Lepomis LC<sub>50</sub>(96h): 4,3 mg/l

macrochirus LC<sub>50</sub>(96h): 3,2 mg/l

Kontamination von Gewässern

Flüsse, Great Lakes n.n. - 9 Mikrogramm/l

Wassereinzugsgebiet ,Kanada

Des Moines n.n.-1,45 Mikrogramm/l

River, Iowa, USA

Brunnen, >0,01-0-071 Mikrogramm/l

Nebraska, USA

Brunnen, >0,02 Mikrogramm/l

Nebraska, USA

Brunnen, 0,1-1000 Mikrogramm/l

Ontario, Kanada

Grundwasser, Wisconsin,USA 88 Mikrogramm/l (Holden, 1986)

Grundwasser, USA 0,1-10 Mikrogramm/l (Cohen et  
al., 1986)

### Genotoxizität

Die Untersuchung mit bakteriellen Testsystemen (Salmonella typhimurium, Escherichia coli, 5000 Mikrogramm/Platte, 48h) erbrachte keine mutagene Wirkung (Moriya et al., 1983). Im Test mit menschlichen Lymphozyten zeigte sich bei Chromosomen in der Metaphase eine erhöhte Aberrationsrate (bei 4, 10, 20, 40 Mikrogramm/ml, 24h) (Georgian et al., 1983), sowie eine Erhöhung der Aberrationsrate von Chromosomen in Knochenmarkszellen von Ratten nach Injektion von 1,25 und 2,50 Mikrogramm/g KG und Tötung nach 24h (Georgian et al., 1983). Die Untersuchung von Metaphasechromosomen bei CHC-Zellen (Chinese hamster ovary Zellen) ergab eine erhöhte Aberrationsrate bei 10 und 20 Mikrogramm/ml und 18 stündiger Behandlung (Lin et al., 1987).

A t r a z i nEigenschaften und Wirkungsweise

|                        |                                                      |
|------------------------|------------------------------------------------------|
| Common name:           | Atrazin                                              |
| Chemische Bezeichnung: | 2-Chlor-4-äthylamino-<br>6-isopylamino-1,3,5-triazin |
| Summenformel:          | $C_8H_{14}ClN_6$                                     |
| Molare Masse:          | 215,69                                               |
| Schmelzpunkt:          | 175-177 °C                                           |
| Dampfdruck:            | 40 Mikropascal bei 20 °C                             |
| Wasserlöslichkeit:     | 30 mg/l bei 30 °C                                    |

Atrazin ist ein Boden und Blattherbizid. Es hemmt die Photosynthese und enzymatische Prozesse der Pflanze. Anwendungsgebiete: Mais, Spargel, Weinbau, Ziergehölze, Baumschulen, Gleisanlagen und Nichtkulturland, Wege und Plätze.

Persistenz im Boden

50% Rückstand nach 37-151 Tagen (humoser Sand), 50% Rückstand nach 29-80 Tagen (sandiger Lehm).

Persistenz im Wasser

60% Rückstand nach 120 Tagen (Teich, Freiland), 4,2% Rückstand nach 133 Tagen (Gräben, Freiland).

Wirkung auf aquatische Organismen

|                            |                                      |
|----------------------------|--------------------------------------|
| <u>Salmo</u>               | LC <sub>50</sub> (96h): 8,8 mg/l     |
| <u>gairdneri</u>           | LC <sub>50</sub> (96h): 17 mg/l      |
| <u>Cyprinus carpio</u>     | LC <sub>50</sub> (96h): 76->100 mg/l |
| <u>Lepomis</u>             | LC <sub>50</sub> (96h): 16 mg/l      |
| <u>macrochirus</u>         | LC <sub>50</sub> (96h): 50 mg/l      |
| <u>Perca sp.</u>           | LC <sub>50</sub> (96h): 16 mg/l      |
| <u>Poecilia reticulata</u> | LC <sub>50</sub> (96h): 4,3 mg/l     |
| <u>Carassius auratus</u>   | LC <sub>50</sub> (96h): >60 mg/l     |
| <u>Leuciscus idus</u>      | LC <sub>50</sub> (48h): 33 mg/l      |
| <u>Coregonus fera</u>      | LC <sub>50</sub> (72h): 29,5 mg/l    |
|                            | LC <sub>50</sub> (72h): 22,4 mg/l    |
|                            | LC <sub>50</sub> (5 d): 6,3 mg/l     |
| <u>Glossiphonia</u>        | LC <sub>50</sub> (28d): 6,3 mg/l     |
| <u>complanata</u>          |                                      |
| <u>Helobdella</u>          | LC <sub>50</sub> (27d): 9,9 mg/l     |
| <u>stagnalis</u>           |                                      |

|                                                 |                                                                                                                              |
|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <u>Daphnia pulex</u>                            | Nach 28 d Exposition war die Reproduktionsrate<br>71,8% der Kontrolle bei 1 mg/l<br>3,5% der Kontrolle bei 20 mg/l           |
| <u>Daphnia pulicaria</u>                        | Verminderung der Futteraufnahme bei 0,5-10 mg/l<br>(50% Wirkstoff)                                                           |
| <u>Chlorohydra<br/>viridissima</u>              | bei 5 mg/l Sprossungsrate stark vermindert, der<br>positive Effekt der symbiontischen Alge wurde<br>durch Atrazin aufgehoben |
| <u>Chlorella sp.</u>                            | EC <sub>50</sub> : 0,143 mg/l                                                                                                |
| <u>Chlorella<br/>vulgaris</u>                   | über 5 mg/l kein Wachstum, bei 0,25 mg/l wurde<br>Wachstum zu Beginn der Exposition gehemmt                                  |
| <u>Elodea canadensis</u>                        | nach 48 h in 3 mg/l bildeten Chloroplasten<br>Klumpen                                                                        |
| <u>Kontamination von aquatischen Organismen</u> |                                                                                                                              |
| <u>Cyprinus carpio</u>                          | Akkumulationsfaktor im Freilandversuch<br>(Anfangskonz.: 0,12 mg/l)<br>nach 4 d - 4 Monaten: 1.0-5,3                         |
| <u>Coregonus fera</u>                           | Akkumulationsfaktor im Freilandversuch<br>(Anfangskonz.: 0,12 mg/l)<br>nach 4 d - 4 Monaten: 2,3-8,2                         |

hungernde Sandfelchen: Akkumulationsfaktor bei  
 0,25-0,284 mg/l: 3;  
 rasche Ausscheidung in sauberem Wasser;  
 gefütterte Sandfelchen: Anreicherungsfaktor: 5,  
 rasche Ausscheidung: nach 3 Tagen kein Rückstand  
 in Fischen

Lepomis

Gehalt im Freilandversuch

macrochirus

(Anfangskonz.: 0,3 mg/l)

nach 120 d: 0,211-0,23 mg/kg

Daphnia

Akkumulationsfaktor im Freilandversuch

pulicaria

(Anfangskonz.: 0,12 mg/l)

nach 4 d - 4 Monaten: 1,2-16,2

Akkumulation über Nahrung in 8 d:

Akkumulationsfaktor bei 8 °C: 11

Akkumulationsfaktor bei 20 °C: 2

Chironomus sp

Akkumulationsfaktor im Freilandversuch

(Anfangskonz.: 0,12 mg/l)

nach 4 d - 4 Monaten: 0,5-4,8

Lemna minor

Akkumulationsfaktor im Freilandversuch

(Anfangskonz.: 0,12 mg/l)

nach 4 d - 7 d 0,9 und 1,6

Ranunculus

Akkumulationsfaktor im Freilandversuch

fluitans

(Anfangskonz.: 0,12 mg/l)

nach 4 d - 41 d 2,8 und 4,4

Elodea canadensis Adsorption in 2 h bei 3 mg/l: 36 mg/kg  
Trockengewicht

Kontamination von Gewässern

|                                                          |                                                      |
|----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| Donau, BRD                                               | 0,03-1,15 Mikrogramm/l                               |
| Isar, BRD                                                | 1,1-1,5 Mikrogramm/l (Braun et<br>al., 1987)         |
| Rhein, Wiesbaden-<br>Schierstein, BRD                    | 0,85-1,25 Mikrogramm/l<br>(Oehmichen, Haberer, 1986) |
| Rhein, Mainz, BRD                                        | >0,4-1 Mikrogramm/l                                  |
| Grundwasser Schwäbische Alb,<br>BRD                      | n.n.-0,5 Mikrogramm/l                                |
| Rhein, Basel,<br>Schweiz                                 | >0,4-1 Mikrogramm/l                                  |
| Loire,<br>St.Benoît, Frankreich                          | >0,4-10 Mikrogramm/l                                 |
| Yamaska River<br>Wassereinzugsgebiet, Ontario,<br>Kanada | 0,01-26,9 Mikrogramm/l                               |

|                                                  |                                                    |
|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Maumee River<br>Wassereinzugsgebiet.Ohio,<br>USA | 300-4800 Mikrogramm/l                              |
| Des Moines River<br>Iowa,USA                     | n.n.-1,365 Mikrogramm/l                            |
| Brunnen,<br>Nebraska, USA                        | <0,005-88,36 Mikrogramm/l                          |
| Brunnen,<br>Ontario, Kanada                      | 0,1->10000 Mikrogramm/l<br>max. 22400 Mikrogramm/l |
| Brunnen,<br>Nebraska, USA                        | <0,005-6,98 Mikrogramm/l                           |
| Brunnen,<br>Nebraska, USA                        | 0,06-3,12 Mikrogramm/l                             |
| Chesapeake Bay,<br>Maryland. USA                 | 0.01-0,1 Mikrogramm/l                              |
| Trinkwasser,<br>Iowa. USA                        | n.n.-0,483 Mikrogramm/l                            |
| Dränwasser,<br>Quebec, Kanada                    | 0.06-10,82 Mikrogramm/l                            |
| Grundwasser, Wisconsin, USA                      | 140 Mikrogramm/l (Holden, 1986)                    |

### Genotoxizität

Atrazin verursachte bei Ratten, welche eine orale Einzeldosis (875 mg/kg) oder mehrere kleinere Mengen (350 mg/kg) erhalten hatten, DNA-Strangbrüche (gemessen mit dem alkaline elution assay) in Zellen des Magens, der Leber und der Niere (Pino et al., 1988).

Negative Reaktionen werden im Ames-Test mit Salmonella typhimurium (1000 Mikrogramm/Platte, 48h ; Mersch-Sundermann et al., 1988), (10000 Mikrogramm/Platte, 48h ; Zeiger et al., 1988) berichtet. Zum gleichen Ergebnis kommen Siebert und Lemperle (1974) mit Saccharomyces cerevisiae (1000 Mikrogramm/Platte, 16h).

Beim Test mit Mäusen wurde keine Erhöhung der Tumorrates festgestellt (Anonym, 1986).

CarbofuranEigenschaften und Wirkungsweise

|                        |                                                               |
|------------------------|---------------------------------------------------------------|
| Common name:           | Carbofuran                                                    |
| Chemische Bezeichnung: | 2,3-Dihydro-2,2-dimethyl-<br>benzofuran-7-yl-N-methylcarbamat |
| Summenformel:          | $C_{12}H_{15}NO_3$                                            |
| Molare Masse:          | 221,25                                                        |
| Schmelzpunkt:          | 150-152 °C                                                    |
| Dampfdruck:            | 2,7 Mikropascal bei 33 °C                                     |
| Wasserlöslichkeit:     | 700 mg/l bei 25 °C                                            |

Das Insektizid Carbofuran wirkt als Fraß- und Kontaktgift und gehört zu den Cholinesterasehemmern. Anwendungsgebiete: Mais, Rüben, Kartoffeln, Weinbau, Hopfen, Kohl, Rettiche, Zierpflanzen.

Persistenz im Boden

50% Rückstand nach 46 Tagen (lehmgiger Sand), nach 22 Tagen (sandig-toniger Lehm), nicht mehr nachweisbar nach 8 Wochen (sandiger Lehm).

Persistenz im Wasser

In steriler Pufferlösung betrug die Halbwertszeit 170 Wochen (pH 4,5), 690 Wochen (pH 6), 8,2 Wochen (pH 7). In Wasser aus Entwässerungsgräben war Carbofuran nach 16 Wochen nicht mehr nachweisbar.

Wirkung auf aquatische Organismen

Salmo LC<sub>50</sub>(96h): 380 mg/l

gairdneri

Lepomis LC<sub>50</sub>(96h): 240 mg/l

macrochirus ATPase (Mg<sup>++</sup>) Aktivität vermindert  
(Lebermitochondrien)

Salmo trutta LC<sub>50</sub>(96h): 560 mg/l

Ictalurus punctatus LC<sub>50</sub>(96h): 248 mg/l

Perca flavescens LC<sub>50</sub>(96h): 147 mg/l

Nostoc muscorum >25000 Mikrogramm/l: Wachstum gehemmt  
120000 Mikrogramm/l: algistatisch höhere  
Konz. waren algitoxisch

Kontamination von Gewässern

Flüsse, Great Lakes n.n.- 1,8 Mikrogramm/l

Wassereinzugsgebiet,

Kanada

Brunnen, 3 Mikrogramm/l

New York, USA

Grundwasser, Wisconsin                      7 Mikrogramm/l (Holden, 1986)  
USA

Grundwasser, Suffolk                      65 Mikrogramm/l (Holden, 1986)  
USA

Grundwasser, USA                      1-50 Mikrogramm/l (Cohen et al., 1986)

### Genotoxizität

Z.T. negatives Ergebnis mit Salmonella typhimurium (48 h ; Gentile et al., 1982), z.T. positives Ergebnis (Konz. 5000 Mikrogramm/Platte, 48h; Moriya et al., 1983). Ebenfalls negativ im Test mit Saccharomyces cerevisiae (4 Tage ; Gentile et al., 1982), negatives Ergebnis im Mikronukleustest mit Knochenmark von Mäusen (10 mg/kg KG, Tötung nach 6h), (Seiler, 1977).

CyanazinEigenschaften und Wirkungsweise

|                        |                                                                          |
|------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| Common name:           | Cyanazin                                                                 |
| Chemische Bezeichnung: | 2-(4-Chlor-6-äthylamino-1,3,5-zin-2-ylamino) - 2 - methyl - propionitril |
| Summenformel:          | $C_9H_{13}ClN_6$                                                         |
| Molare Masse:          | 240,70                                                                   |
| Schmelzpunkt:          | 166,5-167 °C                                                             |
| Dampfdruck:            | 200 nanopascal bei 20 °C                                                 |
| Wasserlöslichkeit:     | 171 mg/l bei 25 °C                                                       |

Cyanazin ist ein Herbizid, welches die Photosynthese hemmt und vorwiegend über die Wurzeln aufgenommen wird. Anwendungsgebiete: Mais, Getreide, Wiesen und Weiden, Baumschulen und Forst. In Deutschland ist das Mittel nur in Kombination mit anderen Wirkstoffen zugelassen.

Persistenz im Boden

13% Rückstand nach 139 Tagen (sandiger Lehm), 12% Rückstand nach 139 Tagen (toniger Lehm).

Wirkung auf aquatische Organismen

Salmo LC<sub>50</sub>(96h): 9 mg/l

gairdneri

Lepomis LC<sub>50</sub>(96h): 22,5 mg/l

macrochirus

Ictalurus LC<sub>50</sub>(96h): 17,4 mg/l

punctatus LC<sub>50</sub>(96h): 10,4 mg/l

Pimephales LC<sub>50</sub>(96h): 16,3 mg/l

promelas

Rasbora LC<sub>50</sub>(48h): 10 mg/l

heteromorpha

Cyprinodon LC<sub>50</sub>(96h): 18 mg/l

variegatus

Gammarus LC<sub>50</sub>(96h): 2 mg/l

fasciatus

Kontamination von Gewässern

Rhein, Wiesbaden- 0,02-0,13 Mikrogramm/l (Oehmichen, Haberer,  
Schierstein, BRD 1986)

|                                 |                                         |
|---------------------------------|-----------------------------------------|
| Des Moines<br>River<br>Iowa USA | n.n.-0,66 Mikrogramm/l                  |
| Brunnen,<br>Ontario, Kanada     | 0,1 - 10 Mikrogramm/l                   |
| Dränwasser<br>Quebec, Kanada    | <0,01-1,06 Mikrogramm/l                 |
| Grundwasser, USA                | 0,1-1 Mikrogramm/l (Cohen et al., 1986) |

#### Genotoxizität

Negatives Ergebnis mit bakteriellen Testsystemen (Konz. 5000 Mikrogramm/Platte, 48h; Moriya et al., 1983).

2,4 - DichlorphenoxyessigsäureEigenschaften und Wirkungsweise

|                        |                              |
|------------------------|------------------------------|
| Common name:           | 2,4-D                        |
| Chemische Bezeichnung: | 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure |
| Summenformel:          | $C_8H_6Cl_2O_3$              |
| Molare Masse:          | 221,04                       |
| Schmelzpunkt:          | 140,5 °C                     |
| Dampfdruck:            | <10 Mikropascal bei 20°C     |
| Wasserlöslichkeit:     | 620 mg/l bei 25 °C           |

2,4-D ist ein Herbizid, welches in viele Stoffwechselprozesse der Zelle eingreift. Hauptwirkung ist vermutlich eine Beeinflussung des Nucleinsäurestoffwechsels. Anwendungsgebiete: Getreide, Wiesen und Weiden, Grassamenbau, Zier- und Sportrasen, landwirtschaftlich nicht genutzte Grasflächen, Wege und Plätze, Nichtkulturland und Gleisanlagen.

Persistenz im Boden

Weniger als 5% Rückstand nach 14 Tagen (toniger Lehm und sandiger Lehm) , 5-20% Rückstand nach 1 Monat (sandige Lehmböden), nicht mehr nachweisbar nach 5 Monaten (schluffiger Lehm).

Persistenz im Wasser

50% Rückstand nach 25 Tagen (Flußwasser), weniger als 0,1% nach 36 Tagen (Teich).

Wirkung auf aquatische Organismen

|                  |                                   |                   |
|------------------|-----------------------------------|-------------------|
| <u>Salmo</u>     | LC <sub>50</sub> (96h): 1 mg/l    | als Propylen-     |
| <u>gairdneri</u> |                                   | glykolbutyläther- |
|                  |                                   | ester             |
|                  | LC <sub>50</sub> (96h): >100 mg/l | als Dimethylamin- |
|                  |                                   | salz              |

ab 1 mg/l wurde Lösung deutlich gemieden  
 0,1 mg/kg wurde den Fischen gespritzt: in  
 4 h werden 62% der Substanz über den Urin  
 ausgeschieden

|                     |                                  |                 |
|---------------------|----------------------------------|-----------------|
| <u>Salmo clarki</u> | LC <sub>50</sub> (96h): 64 mg/l  |                 |
|                     | LC <sub>50</sub> (96h): 0,9 mg/l | als Buthylester |

|                   |                                 |  |
|-------------------|---------------------------------|--|
| <u>Salvelinus</u> | LC <sub>50</sub> (96h): 45 mg/l |  |
| <u>namaycush</u>  |                                 |  |

|                            |                                  |                   |
|----------------------------|----------------------------------|-------------------|
| <u>Lepomis macrochirus</u> | LC <sub>50</sub> (96h): 0,6 mg/l | als Propylen-     |
|                            |                                  | glykolbutyläther- |
|                            |                                  | ester             |
|                            | LC <sub>50</sub> (96h): 168 mg/l | als Dimethylamin- |
|                            |                                  | salz              |

ATPase (Mg<sup>++</sup>) Aktivität vermindert

ATPase (Ca<sup>++</sup>) Aktivität erhöht

(Lebermitochondrien)

|                            |                                                                                                                                                  |                                     |
|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| <u>Ictalurus punctatus</u> | bei 10 mg/l (als Säure und als Dimethylaminsalz) in 48 h weniger als 10% Mortalität                                                              |                                     |
| <u>Oncorhynchus nerka</u>  | nach 48 Stunden bei 1 mg/l (Butoxyäthyl-ester) Veränderungen von Kiemen und Leber; nach 96 h bei 1 mg/l (als Butoxyäthyl-ester) 100% Mortalität. |                                     |
| <u>Gammarus fasciatus</u>  | LC <sub>50</sub> (96h): 2,9 mg/l                                                                                                                 | als Propylen-glycolbutyläther-ester |
|                            | LC <sub>50</sub> (96h): >100 mg/l                                                                                                                | als Dimethylamin-salz               |
| <u>Cyclops vernalis</u>    | LC <sub>50</sub> (96h): 8,72 mg/l                                                                                                                | als Säure                           |
|                            | LC <sub>50</sub> (96h): 54,8 mg/l                                                                                                                | als Alkanolamin-salz                |
| <u>Daphnia magna</u>       | LC <sub>50</sub> (48h): 4 mg/l                                                                                                                   | als Dimethylamin-salz               |
|                            | LC <sub>50</sub> (48h): 1,2 mg/l                                                                                                                 | als Propylen-glycolbutyläther-ester |
| <u>Daphnia pulicaria</u>   | bis 20 mg/l kein Einfluß auf Futteraufnahme, ab 1,16 mg/l Tributon (2,4-D + 2.4.5 T) war Ingestionsrate 50%                                      |                                     |

|                             |                                          |                                             |
|-----------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------------|
| <u>Chironomus sp.</u>       | bei 1 und 3 mg/l (als Butoxyäthyl-ester) |                                             |
|                             | war Schlupf und Verpuppung deutlich      |                                             |
|                             | vermindert                               |                                             |
| <u>Ephemerella walkeri</u>  | bei 100 mg/l (als Dimethylaminsalz) 70%  |                                             |
|                             | Mortalität; die Lösung wurde nicht       |                                             |
|                             | gemieden                                 |                                             |
| <u>Pteronraceella badia</u> | LC <sub>50</sub> (96h): 2,4 mg/l         | als Propylen-<br>glycolbutyläther-<br>ester |
| <u>Chlorella vulgaris</u>   | LC <sub>50</sub> (24h): 400 mg/l         | als Säure                                   |
| <u>Stigeoclonium</u>        | LC <sub>50</sub> (24h): 100 mg/l         | als Säure                                   |
| <u>helveticum</u>           |                                          |                                             |

#### Kontamination von Gewässern

|                        |                        |
|------------------------|------------------------|
| Flüsse, Great Lakes    | n.n.-320 Mikrogramm/l  |
| Wassereinzugsgebiet,   |                        |
| Kanada                 |                        |
| Flüsse, Pennsylvania   | n.n.-0,91 Mikrogramm/l |
| USA                    |                        |
| Flüsse, Westen der USA | n.n.-0,99 Mikrogramm/l |
| Avon River,            | ca. 0,1-1 Mikrogramm/l |
| Westaustralien         |                        |

|                                                   |                                                     |
|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Maumee River, Wasser-<br>einzugsgebiet, Ohio, USA | <1 Mikrogramm/l                                     |
| Brunnen, Ontario, Kanada                          | 0,01->10000 Mikrogramm/l<br>max. 14600 Mikrogramm/l |
| Grundwasser, Kalifornien                          | 4 Mikrogramm/l (Holden, 1986)                       |

### Genotoxizität

Negativ im Ames-Test mit Salmonella typhimurium (5000 Mikrogramm/Platte, 48h; Moriya et al., 1983), (1000 Mikrogramm/Platte, 48h; Mersch-Sundermann et al., 1988), ebenso negativ im Host-mediated assay mit Salmonella typhimurium und Saccharomyces cerevisiae (6 mg/Maus, Tötung nach 3h; Zetterberg et al., 1977), positiv im Test mit Saccharomyces cerevisiae (1000 Mikrogramm/Platte, 16h; Siebert und Lemperle, 1974). Einen Anstieg des Schwesterchromatidaustausches bei menschlichen Lymphozyten (Konzentration: 50 Mikrogramm/ml, 72h) stellten Turkula und Jalal (1985) fest. Von einer Erhöhung der Chromosomenaberrationsrate im Knochenmark von Ratten nach Behandlung mit 2-4-D in vivo (70 mg/kg, Tötung nach 6h) berichten Adhikari und Grover (1988). Positiv verlief auch der UDS-Test mit menschlichen Zellkulturen (1 Mikromol, 8h; Ahmed et al., 1977). Seiler (1978), der bovine Nierenzellen und bovine periphere Blutzellen verwendete, konnte keine erhöhte Chromosomenaberrationsrate feststellen (1-1000 mg/l, 6-96h). Ein erhöhtes Tumorkommen bei Mäusen wurde nicht festgestellt (Anonym, 1986).

D i c a m b aEigenschaften und Wirkungsweise

|                        |                                   |
|------------------------|-----------------------------------|
| Common name:           | Dicamba                           |
| Chemische Bezeichnung: | 3,6-Dichlor-2-methoxy-benzoesäure |
| Summenformel:          | $C_8H_6Cl_2O_3$                   |
| Molare Masse:          | 221,04                            |
| Schmelzpunkt:          | 114-116 °C                        |
| Dampfdruck:            | 4,5 Mikropascal bei 25 °C         |
| Wasserlöslichkeit:     | 6,5 g/l bei 25 °C                 |

Das Herbizid Dicamba wird über Blätter und Wurzeln aufgenommen.

Anwendungsgebiete: Getreide, landwirtschaftlich nicht genutzte Grasflächen, Zier- und Sportrasen, ist in Deutschland nur in Kombination mit anderen Wirkstoffen zugelassen.

Persistenz im Boden

50% Rückstand nach 17 Tagen (lehmiger Sand), 5% Rückstand nach 42 Tagen (schluffiger Lehm), nicht nachweisbar nach 5 Monaten (sandiger Lehm, schwerer Ton)

Wirkung auf aquatische Organismen

Salmo gairdneri LC<sub>50</sub>(96h): 135 mg/l

LC<sub>50</sub>(96h): 28 mg/l

Lepomis macrochirus LC<sub>50</sub>(96h): 135 mg/l

Gammarus fasciatusLC<sub>50</sub> (96h): >100 mg/lDaphnia magnaLC<sub>50</sub> (48h): >100 mg/lKontamination von Gewässern

Flüsse, Great Lakes

n.n.-0,7 Mikrogramm/l

Wassereinzugsgebiet, Kanada

Brunnen, Ontario, Kanada

0,01-10000 Mikrogramm/l

Farmer Creek, Wassereinzugs-  
gebiet, Oregon, USAnach Ausbringung mit Flugzeug  
max. 37 Mikrogramm/l, bis 11  
Tage nach Ausbringung  
nachweisbarGenotoxizität

Negative Reaktionen in Testsystemen mit Salmonella typhimurium  
(5000 Mikrogramm/Platte, 48h; Moriya et al., 1983), (1000  
Mikrogramm/Platte, 48h; Mersch-Sundermann et al., 1988).

DimethoatEigenschaften und Wirkungsweise

|                        |                                                      |
|------------------------|------------------------------------------------------|
| Common name:           | Dimethoat                                            |
| Chemische Bezeichnung: | 0,0-Dimthyl-S-(2-oxo-3-aza-butyl)-<br>dithiophosphat |
| Summenformel:          | $C_5H_{12}NO_3PS_2$                                  |
| Molare Masse:          | 229,28                                               |
| Schmelzpunkt:          | 51-52 °C                                             |
| Dampfdruck:            | 1,1 Mikropascal bei 25 °C                            |
| Wasserlöslichkeit:     | 25 g/l bei 20 °C                                     |

Dimethoat ist ein Insektizid und Akarizid mit Fraß- und Berührungsgiftwirkung, welches die Cholinesterase hemmt. Anwendungsgebiete: Getreide, Kartoffeln, Zucker- und Futterrüben, Klee, Luzerne, Lupinen, Weinbau, Hopfen, Kern- Stein- und Beerenobst, Gemüse, Zierpflanzen und Forst.

Persistenz im Boden

50% Rückstand nach 28,9 und 36,7 Tagen (Lehm), weniger als 2% Rückstand nach 10 Tagen, (Lehm), nur in Spuren nachweisbar nach 14 Tagen (sandiger Lehm).

Persistenz im Wasser

50% Rückstand nach 8 Wochen (Flußwasser).

Wirkung auf aquatische Organismen

Salmo gairdneri LC<sub>50</sub>(96h): 6,2 mg/l

Lepomis macrochirus LC<sub>50</sub>(96h): 6,0 mg/l

Poecilia reticulata LC<sub>50</sub>(96h): 570 mg/l

Channa punctatus LC<sub>50</sub>(96h): 20,5 mg/l

nach 96 h bei 0,28 mg/l

histopathologische Veränderung der  
Leber

Gambusia affinis LC<sub>50</sub>(96h): 40-60 mg/l

Gammarus lacustris LC<sub>50</sub>(96h): 0,2 mg/l

Daphnia magna LC<sub>50</sub>(96h): 6,4 mg/l

Kontamination von Gewässern

Kromme Rhine, NL <0,1-<0,11 Mikrogramm/l

Entwässerungsgräben, <0,01-<0,1 Mikrogramm/l

Kromme Rhine Gebiet, NL

Grundwasser, Kalifornien, USA 190 Mikrogramm/l (Holden, 1986)

Genotoxizität

Z.T. positiv in bakteriellen Testsystemen (5000 Mikrogramm/Platte, 48h ; Moriya et al., 1983), positive Reaktion im UDS-Test mit menschlichen Fibroblasten-Zellkulturen (100 Mikromol, 8h; Ahmed et al., 1977). Degraeve und Moutschen (1983) behandelten Mäuse mit Dimethoat (Intraperitoneale Injektion von 10 mg/kg KG, Tötung nach 12, 24, 36 und 48 Stunden; orale Applikation von 0,6 Mikrogramm/l Trinkwasser, 5 Tage/Woche, 6 Wochen lang) und erhielten sowohl im Dominant/Letal-Test als auch bei der Untersuchung des Knochenmarks ein negatives Ergebnis. Der Mikronukleustest mit Knochenmarkszellen von Mäusen ergab keine Erhöhung der Aberrationsrate (100mg/kg KG, Tötung nach 6h), (Seiler, 1977). Eine Erhöhung des Schwesterchromatidaustausches erbrachte die Untersuchung von Chen et al., (1981) mit Zellen des Chinesischen Hamsters (20, 40, 80 Mikrogramm/ml, 29h). Ein erhöhtes Tumorkommen bei Ratten und Mäusen wird von Reuber (1984) berichtet.

Hexachlorbenzol (HCB)Eigenschaften und Wirkungsweise

|                        |                            |
|------------------------|----------------------------|
| Common name:           | Hexachlorbenzol, HCB       |
| Chemische Bezeichnung: | Hexachlorbenzol            |
| Summenformel:          | $C_6Cl_6$                  |
| Molare Masse:          | 284,81                     |
| Schmelzpunkt:          | 226 °C                     |
| Dampfdruck:            | 1,45 Mikropascal bei 20 °C |
| Wasserlöslichkeit:     | praktisch unlöslich        |

HCB ist ein Fungizid und wird als Saatgutbeizmittel verwendet. Es entsteht auch als Nebenprodukt in der Industrie. In Deutschland sind HCB-haltige Fungizide verboten.

Persistenz im Boden

50% Rückstand nach 969 und 2089 Tagen (Sand), kein Abbau in 12 Monaten (schluffiger Lehm).

Wirkung auf aquatische Organismen

|                             |                                  |
|-----------------------------|----------------------------------|
| <u>Lepomis macrochirus</u>  | LC <sub>50</sub> (96h): 12 mg/l  |
| <u>Ictalurus punctatus</u>  | LC <sub>50</sub> (96h): 14 mg/l  |
| <u>Oncorhynchus kisutch</u> | LC <sub>50</sub> (96h): >50 mg/l |

Pimephales promelasLC<sub>50</sub>(96h): 22 mg/lTetrahymenapyriformis

nach 7 Tagen Exposition wurden die Aktivitäten von 8 Enzymen untersucht: bei 0,001 und 0,1 mg/l waren die Aktivitäten der meisten Enzyme erhöht, 1 mg/l wirkte sich eher hemmend auf die Enzymaktivitäten aus

Chlorellapyrenoidosa

Hemmung der Photosyntheserate in 72 h: bei 0,1 mg/l: 33,3%, bei 5 mg/l: 51% , bei 0,001-10 mg/l in 48 h Wachstum vermindert, im Langzeitversuch über 3 Monate bis 0,1 mg/l stimulierende Wirkung auf Chlorophyllgehalt.

Kontamination von aquatischen Organismen

Fische, Flüsse, BRD

460 Mikrogramm/kg, bezogen auf Fett

Fische, Teiche, BRD

260 Mikrogramm/kg, bezogen auf Fett

Fische, Golf Kisamos  
Griechenland

18 Mikrogramm/kg Frischgewicht

Coregonus albula

Konzentration in Leber:

See ,Norwegen

120 Mikrogramm/kg, bezogen auf Fett

(1974)

110 Mikrogramm/kg, bezogen auf Fett

(1979)

Gambusia affinis, 718-379,8 Mikrogramm/kg  
Mississippi, USA

Fische, Flüsse, Great Lakes <5-447 Mikrogramm/kg  
Wassereinzugsgebiet, USA

Salmo salar, Eier aus Fluß, 89-159 Mikrogramm/kg, bezogen auf  
New Brunswick, Kanada Fett, keine erkennbaren Auswirkungen  
auf Schlupf

#### Kontamination von Gewässern

Rhein, NL. max. 0,55 Mikrogramm/l

Gewässer in Bayern, BRD max. 1,4 ng/l (Braun et al., 1987)

Mississippi, Louisiana, USA <0,7-21,2 Mikrogramm/l

Golf Kisosmos, Griechenland <0,005 Mikrogramm/l

Grundwasser, Kalifornien, 0,05 Mikrogramm /l (Holden, 1986)

#### Genotoxizität

Nicht mutagen bei Salmonella typhimurium (10000 Mikrogramm/Platte, 48h; Zeiger et al., 1983), Gopalaswamy und Aiyar (1986) berichten zum Teil positive Reaktionen von Salmonella typhimurium (50 + 100 Mikrogramm/Platte, 48h). Gorski et al. (1986) untersuchten HCB im Ames-Test, mit dem Test auf

Schwesterchromatidaustausch (Knochenmarkszellen von Mäusen) ,im alkaline elution Test (DNA von Rattenleber) und erhielten bei allen 3 Tests ein negatives Ergebnis (Dosisbereich bis 1000 Mikrogramm/Platte bzw. 1000 Mikrogramm/kg Körpergewicht). Erhöhung der Lebertumorraten bei Nagetieren verursacht durch HCB berichten Cabral et al. (1982): Höchste Tumorraten bei Konzentration von 4-6 mg/ kg Körpergewicht und Tag.

L i n d a nEigenschaften und Wirkungsweise

|                        |                                            |
|------------------------|--------------------------------------------|
| Common name:           | Lindan, gamma-HCH                          |
| Chemische Bezeichnung: | gamma-1,2,3,4,5,6-Hexachlor-<br>cyclohexan |
| Summenformel:          | $C_6H_6Cl_6$                               |
| Molare Masse:          | 290.85                                     |
| Schmelzpunkt:          | 112 °C                                     |
| Dampfdruck:            | 5,6 Millipascal bei 20 °C                  |
| Wasserlöslichkeit:     | 7 mg/l bei 20 °C                           |

Lindan ist ein Insektizid mit Fraß-, Atem- und Kontaktgiftwirkung.

Anwendungsgebiete: Getreide, Mais, Kartoffeln, Rüben, Brassicaarten, Leguminosen, Weinbau, Gemüse, Kern-, Stein- und Beerenobst, Zierpflanzen, Forst- und Vorratsschutz.

Persistenz im Boden

76,5% Rückstand nach 15 Tagen (schluffiger Lehm), 89% Rückstand nach 8 Wochen (mineralischer Boden).

Persistenz im Wasser

100% Rückstand nach 8 Wochen (Flußwasser), weniger als 30% Rückstand nach 16 Wochen (Wasser aus Entwässerungsgräben).

Wirkung auf aquatische Organismen

|                            |                                                                                        |
|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| <u>Salmo gairdneri</u>     | LC <sub>50</sub> (96h): 27 Mikrogramm/l                                                |
| <u>Lepomis macrochirus</u> | LC <sub>50</sub> (96h): 68 Mikrogramm/l                                                |
|                            | LC <sub>50</sub> (96h): 57 Mikrogramm/l                                                |
|                            | LC <sub>50</sub> (96h): 138 Mikrogramm/l                                               |
|                            | ATPase (Cd <sup>++</sup> , Zn <sup>++</sup> ) Aktivität<br>vermindert                  |
|                            | ATPase (Mg <sup>++</sup> , Mn <sup>++</sup> ) Aktivität erhöht<br>(Lebermitochondrien) |
| <u>Salmo trutta</u>        | LC <sub>50</sub> (96h): 1,7 Mikrogramm/l                                               |
| <u>Cyprinus carpio</u>     | LC <sub>50</sub> (96h): 90 Mikrogramm/l                                                |
| <u>Carassius auratus</u>   | LC <sub>50</sub> (96h): 131 Mikrogramm/l                                               |
| <u>Perca flavescens</u>    | LC <sub>50</sub> (96h): 68 Mikrogramm/l                                                |
| <u>Poecilia reticulata</u> | LC <sub>50</sub> (48h): 160 Mikrogramm/l, männlich                                     |
|                            | LC <sub>50</sub> (48h): 300 Mikrogramm/l, weiblich                                     |
| <u>Gobio gobio</u>         | LC <sub>50</sub> (96h): 74,3 Mikrogramm/l                                              |

Gammarus fasciatus LC<sub>50</sub>(96h): 5,6 Mikrogramm/l, hartes  
Wasser  
LC<sub>50</sub>(96h): 13,6 Mikrogramm/l, weiches  
Wasser

Palaemonetes pugio LC<sub>50</sub>(96h): 4,44 Mikrogramm/l

Penaeus duorarum LC<sub>50</sub>(96h): 0,17 Mikrogramm/l

Daphnia pulex LC<sub>50</sub>(48h): 460 Mikrogramm/l

Daphnia magna LC<sub>50</sub>(96h): 516 Mikrogramm/l  
LC<sub>50</sub>(96h): 6422 Mikrogramm/l

#### Kontamination von aquatischen Organismen

Fische, Bodensee, BRD 10-520 Mikrogramm/kg

Fische, Rhein, BRD 10-250 Mikrogramm/kg

Clupea harengus, BRD 15 Mikrogramm/kg  
Nordseeküste

Corbicula manilensis nach 60 Tagen Exposition:  
Kaskasia River Illinois, USA 773 Mikrogramm/kg bezogen auf Fett  
BCF: 2610

Gobio gobio

Akkumulation in Muskeln bzw. Gehirn  
 bei 0,22 Mikrogramm/l: 20 bzw.  
 129 Mikrogramm/kg ; bei  
 142 Mikrogramm/l: 593 bzw.  
 9005 Mikrogramm/kg, Akkumulations-  
 faktor: 5-600

Sigara lateralis

adult

Akkumulationsfaktor bei 10  
 Mikrogramm/l nach 48h: 70 (FG),  
 Sättigungsgleichgewicht nach ca. 50  
 Stunden erreicht, Desorption:  
 innerhalb 36 h keine D.

Sigara striata

1.Larvenst.

Akkumulatinsfaktor bei 10  
 Mikrogramm/l nach 48 h: 100 (FG),  
 Sättigungsgleich gewicht nach ca.  
 24 h erreicht, Desorption: nach ca.  
 90 Minuten war nur noch die Hälfte  
 des akkumulierten Wirkstoffes  
 nachweisbar

Nitzschiaactinastroides

Akkumulationsfaktor bei 10  
 Mikrogramm/l in 24 h:  
 1500-4700 (bezogen auf Volumen),  
 19000-337000 (bezogen auf Fett)

Kontamination von Gewässern

Schnee, Bayern, BRD

6 ng/l

|                                        |                 |
|----------------------------------------|-----------------|
| Bodensee, BRD                          | 3 und 5 ng/l    |
| Bodensee, Langenargen<br>BRD           | 25 ng/l         |
| Rhein, Karlsruhe<br>BRD                | 50-535 ng/l     |
| Kaskasia River, Illinois,<br>USA       | 296 ng/l        |
| Flüsse, Seen,<br>Mississippi, USA      | 20-160 ng/l     |
| Flüsse im Westen der USA               | n.n.-160 ng/l   |
| Mississippi, USA                       | ca. 1,2-3 ng/l  |
| Flüsse, Pennsylvania, USA              | n.n.-340 ng/l   |
| Flüsse, Japan                          | ca. 10-100 ng/l |
| Marlut-See, Ägypten                    | 142-7687 ng/l   |
| Habitant Creek,<br>Nova Scotia, Kanada | n.n.-110 ng/l   |
| Brunnen, South Carolina, USA           | n.n.-21,1 ng/l  |

Genotoxizität

Negativ verlief der Test mit Salmonella typhimurium bei Zeiger et al. (1983), ( 333 Mikrogramm/Platte, 48h), ebenso bei Mersch-Sundermann et al.(1988), (1000 Mikrogramm/Platte, 48h). Über z.T. positives Ergebnis mit Salmonella typhimurium berichten Geopalaswami und Aiyar (1986),(50 Mikrogramm/Platte, 48h). Der Mikronukleustest mit Mäusen (75 mg/kg KG, Tötung nach 30h; Jenssen und Ranel, 1980) und der UDS-Test mit menschlichen Fibroblastenzellkulturen (1000 Mikromol, 8h; Ahmed et al., 1977) erbrachte ebenfalls negative Resultate. Allerdings berichten einige Autoren über ein erhöhtes Auftreten von Lebertumoren nach Lindanapplikation bei Nagetieren (Jenssen und Ranel, 1980; Sternberg, 1979; Williams, 1982).

LinuronEigenschaften und Wirkungsweise

|                        |                                                   |
|------------------------|---------------------------------------------------|
| Common name:           | Linuron                                           |
| Chemische Bezeichnung: | 3-(3,4-Dichlorphenyl)-1-methoxy-1-methylharnstoff |
| Summenformel:          | $C_9H_{10}Cl_2N_2O_2$                             |
| Molare Masse:          | 249,10                                            |
| Schmelzpunkt:          | 93-94 °C                                          |
| Dampfdruck:            | 2 Millipascal bei 24 °C                           |
| Wasserlöslichkeit:     | 81 mg/l bei 24 °C                                 |

Das Herbizid Linuron wird über Wurzeln und Blätter aufgenommen und hemmt die Photosynthese. Anwendungsgebiete: Wintergetreide, Kartoffeln, Weinbau, Gemüse, Gladiolen, Ziergehölze.

Persistenz im Boden

50% Rückstand nach 87,9 und 43 Tagen (sandiger Lehm).

Persistenz im Wasser

Kein Abbau in 4 Monaten (Pufferlösung), kein Abbau in 4 Monaten (gepuffertes Flußwasser).

Wirkung auf aquatische Organismen

Salmo gairdneri

LC<sub>50</sub>(96h): 16 mg/l

Lepomis macrochirusLC<sub>50</sub>(96h): 16 mg/lRasbora heteromorpha

LC<sub>50</sub>(96h): 0,6 mg/l (als Handels-  
präparat mit 12% Linuron +  
24% Trifluralin)

Kontamination von Gewässern

Rhein, Bad Honnef, BRD  
1984

max. 0,45 Mikrogramm/l (Stock, 1988)

Rhein, Bad Honnef, BRD  
1985

max 0,80 Mikrogramm/l (Stock, 1988)

Rhein, Süd, BRD  
1986

max. 0,55 Mikrogramm/l (Stock, 1988)

Rhein, BRD

max. 1,8 Mikrogramm/l (Norman u.a.,  
1987)

Brunnen, Ontario, Kanada

1,1-10 Mikrogramm/l

Genotoxizität

Über negative Ergebnisse im Test mit Salmonella typhimurium berichten Moriya et al., 1983. (5000 Mikrogramm/Platte, 48h) und Marshall et al., 1976. (200 Mikrogramm/Platte, 48h). Ebenso negativ verlief der Mikronukleustest mit Mäusen (900 mg/kg : Seiler, 1977).

MetolachlorEigenschaften und Wirkungsweise (Perkow 1983/88)

|                        |                                                              |
|------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Common name:           | Metolachlor                                                  |
| Chemische Bezeichnung: | 2-Ethyl-6-methyl-N-(1-methyl-2-methoxyethyl)-chloracetanilid |
| Summenformel:          | $C_{15}H_{22}ClNO_2$                                         |
| Molare Masse:          | 283,80                                                       |
| Schmelzpunkt:          | -                                                            |
| Dampfdruck:            | 1,7 Millipascal bei 20 °C (Worthing, 1987)                   |
| Wasserlöslichkeit:     | 530 mg/l bei 20 °C                                           |

Metolachlor ist ein Herbizid, welches den Keimvorgang hemmt. Bei Hafer erfolgte eine Zellteilungshemmung der Wurzeln bei einer Konzentration von 1 Mikromol (Hess, 1982). Anwendungsgebiete: gegen Schadgräser in Zucker- und Futterrüben, Mais, Soja, Erdnuß, Sonnenblumen.

Persistenz im Boden (Perkow 1983/88)

50% Rückstand nach 26 Tagen (Laborversuch).

Wirkung auf aquatische Organismen (Worthing, 1987)Salmo gairdneri

LC<sub>50</sub>(96h): 2 mg/l

Cyprinus carpioLC<sub>50</sub>(96h): 4,9 mg/lLepomis macrochirusLC<sub>50</sub>(96h): 15 mg/lKontamination von Gewässern

Rhein, Wiesbaden, 9-3,18 Mikrogramm/l (Oehmichen, Haberer,  
 Schierstein 1986/87 1986)  
 BRD

Rhein, bei Wiesbaden 1-1,5 Mikrogramm/l (Oehmichen, Haberer,  
 1987 + 1986 ,BRD 1988)

Rhein,BRD max. 1,7 Mikrogramm/l (Norman u.a., 1987)

Grundwasser,BRD max. 0,45 Mikrogramm/l (Norman u.a., 1987)

Grundwasser, USA 0,1-0,4 Mikrogramm/l (Cohen et al., 1986)

Genotoxizität

Negatives Ergebnis im Ames-Test (1000 Mikrogramm/Platte; Anonym, 1986), und im Dominant/Letal-Test mit Mäusen (100 und 300 Mikrogramm/kg ; Anonym, 1986). Hemmung der Zellteilung bei Pflanzen (Konz. 1 Mikromol, 30h ; Hess, 1982). Ein erhöhtes Tumorkommen bei Mäusen konnte nicht festgestellt werden (Anonym, 1986).

MetoxuronEigenschaften und Wirkungsweise (Perkow 1983/88)

|                        |                                                    |
|------------------------|----------------------------------------------------|
| Common name:           | Metoxuron                                          |
| Chemische Bezeichnung: | N-(3-Chlor-4-methoxy-phenyl)-N,N-dimethylharnstoff |
| Summenformel:          | $C_{10}H_{13}ClN_2O_2$                             |
| Molare Masse:          | 228,68                                             |
| Schmelzpunkt:          | 126-127 °C (rein), techn. 120-125 °C               |
| Dampfdruck:            | $4,2 \cdot 10^{-8}$ Millibar bei 20 °C             |
| Wasserlöslichkeit:     | 678 mg/l bei 24 °C                                 |

Das Herbizid Metoxuron hemmt die Photosynthese. Anwendungsgebiete: Getreide, Möhren.

Persistenz im Boden (Perkow 1983/88)

50% Rückstand nach 10-30 Tagen.

Wirkung auf aquatische Organismen

|                             |                                                         |
|-----------------------------|---------------------------------------------------------|
| <u>Rasbora heteromorpha</u> | LC <sub>100</sub> (24h): 170 mg /l (Perkow,<br>1983/88) |
|                             | LC <sub>100</sub> (48h): 75 mg/l (Perkow, 1983/88)      |
| <u>Salmo gairdneri</u>      | LC <sub>50</sub> (96h): 19,8 mg/l (Worthing, 1987)      |

|                                |                                                   |
|--------------------------------|---------------------------------------------------|
| <u>Carassius carassius</u>     | LC <sub>50</sub> (96h): 81 mg/l (Anonym, 1986)    |
| <u>Scenedesmus supspicatus</u> | LC <sub>50</sub> (96h): 64 mg/l (Anonym, 1986)    |
| <u>Daphnia magna</u>           | LC <sub>50</sub> (24h): 215,6 mg/l (Anonym, 1986) |

#### Kontamination von Gewässern

Rhein, BRD 20-210 ng/l (Stöber und Reupert, 1978)

Rhein, BRD 0,5 Mikrogramm/l (Norman u.a., 1987)

Rhein, Kleve-Bimmen max. 0,31 Mikrogramm/l (Stock, 1988)  
1984, BRD

Rhein, Bad Honnef, BRD max. 0,68 Mikrogramm/l (Stock, 1988)

#### Genotoxizität

Eine negative Reaktion zeigten der Mikronukleustest mit Mäusen (650, 1300, 2600 mg/kg KG) und der Test mit Metaphasechromosomen im Knochenmark von Ratten (500, 1000, 2000 mg/kg KG), (Anonym. 1986).

Metribuzin

|                        |                                                                  |
|------------------------|------------------------------------------------------------------|
| Common name:           | Metribuzin                                                       |
| Chemische Bezeichnung: | 4-Amino-6-tert.butyl-3-(methyl-thio)-<br>1,2,4-triazin-5-(4H)-on |
| Summenformel:          | $C_8H_{14}N_4OS$                                                 |
| Molare Masse:          | 214,29                                                           |
| Schmelzpunkt:          | 125,5-126,5 °C                                                   |
| Dampfdruck:            | <1,3 Millipascal bei 20 °C                                       |
| Wasserlöslichkeit:     | 1,2 g/l bei 20°C                                                 |

Das Herbizid Metribuzin wird über Wurzeln und Blätter aufgenommen und hemmt die Photosynthese. Anwendungsgebiete: Kartoffeln, Luzerne, Tomaten, Spargel.

Persistenz im Boden

50% Rückstand nach 48,8 und 46 Tagen (sandiger Lehm), 6% Rückstand nach 22 Wochen (sandiger Lehm), 20% Rückstand nach 22 Wochen (toniger Lehm).

Wirkung auf aquatische OrganismenRasbora heteromorpha

LC<sub>50</sub>(96h): 140 ng/l, 70% Wirkstoff (bezieht sich auf Handelspräparat)

Ictalurus punctatus

bei 10 mg/l in 48 h weniger als 10% Mortalität

Salmo gairdneri LC<sub>50</sub>(96h): 76 mg/l (Worthing, 1987)

Lepomis macrochirus LC<sub>50</sub>(96h): 80 mg/l (Worthing, 1987)

### Kontamination von Gewässern

Flüsse, Great Lakes n.n.-1,4 Mikrogramm/l

Wassereinzugsgebiet, Kanada

Dränwasser, Quebec <0,01-1,65 Mikrogramm/l

Kanada

Grundwasser, USA 1,0-4,3 Mikrogramm/l (Cohen et al., 1986)

Grundwasser, Wisconsin 1,8 Mikrogramm/l (Holden, 1986)

USA

### Genotoxizität

Negatives Ergebnis mit bakteriellen Testsystemen (5000 Mikrogramm/Platte, 48h; Moriya et al., 1982), ebenso mit Saccharomyces cerevisiae (1000 Mikrogramm/Platte, 16h; Siebert und Lemperle, 1974). Auch der Dominant/Letal-Test mit Mäusen (330 mg/kg KG, oral und 10 bzw. 20 mg/kg KG intraperitoneal) verlief negativ (Anonym, 1986). Ein erhöhtes Tumorkommen konnte nicht festgestellt werden (Anonym, 1986).

Pentachlorphenol (PCP)Eigenschaften und Wirkungsweise

|                        |                       |
|------------------------|-----------------------|
| Common name:           | Pentachlorphenol, PCP |
| Chemische Bezeichnung: | Pentachlorphenol      |
| Summenformel:          | $C_6HCl_5O$           |
| Molare Masse:          | 266,3                 |
| Schmelzpunkt:          | 191 °C                |
| Dampfdruck:            | 19 Pascal bei 100 °C  |
| Wasserlöslichkeit:     | 20 mg/l bei 30 °C     |

PCP wird als Holzschutzmittel eingesetzt und schützt vor Fäulnispilzen, Termiten und holzbohrenden Insekten. Anwendungsgebiete: gegen Bläuepilze und zum Wundverschluß. In Deutschland ist PCP nur in Kombination mit anderen Wirkstoffen zugelassen.

Persistenz im Boden

20% Rückstand nach 160 Tagen (toniger Lehm).

Persistenz im Wasser

99% Rückstand nach 40 Tagen (Flußwasser), 50% nach 18,6 Tagen (Teichwasser).

Wirkung auf aquatische Organismen

Salmo gairdneri LC<sub>50</sub>(96h): 52 Mikrogramm/l, tech.Wirkstoff  
 LC<sub>50</sub>(96h): 55 Mikrogramm/l, Na-PCP, 90%  
 Wirkstoff

Lepomis macrochirus LC<sub>50</sub>(96h): 32 Mikrogramm/l, tech.Wirkstoff  
 LC<sub>50</sub>(96h): 44 Mikrogramm/l, Na-PCP, 90%  
 Wirkstoff

in subletaler Konzentration von 100  
 Mikrogramm/l traten nach 48 h degenerative  
 Veränderungen der Leber auf

Ictalurus punctatus LC<sub>50</sub>(96h): 68 Mikrogramm/l, tech.Wirkstoff  
 LC<sub>50</sub>(96h): 77 Mikrogramm/l, Na-PCP, 90%  
 Wirkstoff

Pimephales promelas LC<sub>50</sub>(96h): 205 Mikrogramm/l, tech.Wirkstoff  
 LC<sub>50</sub>(96h): 220 Mikrogramm/l  
 LC<sub>50</sub>(192h): 200 Mikrogramm/l

die Exposition bei 128 und 223  
 Mikrogramm/l von Larven und Fischen  
 minderte die Überlebensrate deutlich;  
 ab 73 Mikrogramm/l war Wachstum  
 vermindert, in 223 Mikrogramm/l schlüpften  
 keine normalen Larven,  
 MATC: 44,9-73 Mikrogramm/l

|                                 |                                                                                                                                                 |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <u>Salmo trutta</u>             | LC <sub>50</sub> (24h): 200 Mikrogramm/l                                                                                                        |
| <u>Carassius auratus</u>        | LC <sub>50</sub> (96h): 247 Mikrogramm/l<br>LC <sub>50</sub> (96h): 190 Mikrogramm/l                                                            |
| <u>Poecilia reticulata</u>      | LC <sub>50</sub> (96h): 0,16 Mikromol/l, pH 5<br>LC <sub>50</sub> (96h): 1,66 Mikromol/l, pH 7<br>LC <sub>50</sub> (96h): 3,42 Mikromol/l, pH 8 |
| <u>Crangon crangon</u>          | LC <sub>50</sub> (96h): 1790 Mikrogramm/l, adult, Na-PCP<br>LC <sub>50</sub> (96h): 112 Mikrogramm/l, Larven, Na-PCP                            |
| <u>Palaemonetes<br/>elegans</u> | LC <sub>50</sub> (96h): 10390 Mikrogramm/l, adult, Na-PCP<br>LC <sub>50</sub> (96h): 84 Mikrogramm/l, Larven, Na-PCP                            |
| <u>Palaemonetes<br/>varians</u> | LC <sub>50</sub> (96h): 5090 Mikrogramm/l, adult, Na-PCP<br>LC <sub>50</sub> (96h): 363 Mikrogramm/l, Larven, Na-PCP                            |
| <u>Daphnia magna</u>            | LC <sub>50</sub> (48h): 680 Mikrogramm/l                                                                                                        |

Astuar-Biozönose  
(im Labor)

nach 7 Tagen in 140 Mikrogramm/l  
Exposition war die Artenzusammenstellung  
verändert, die Zahl der Arten und die Zahl  
der Tiere war vermindert; Mollusken und  
Anneliden waren besonders betroffen.

Phytoplankton bei 500-2000 Mikrogramm/l war die  
aus Ästuar Photosyntheserate vermindert

### Kontamination von aquatischen Organismen

Salmo Akkumulation in 115 Tagen bei:  
gairdneri <0,01 Mikrogramm/l (Na-PCP): 1,3-2,6 Mikrogramm/kg  
0,035 Mikrogramm/l (Na-PCP): 5-9 Mikrogramm/kg  
0,66 Mikrogramm/l (Na-PCP): 100-209 Mikrogramm/kg  
bei 0,66 Mikrogramm/l war Wachstum vermindert

Salmo Akkumulationsfaktor in 24 h :100  
trutta

### Kontamination von Gewässern

Havel, Berlin, BRD 0,7-1,5 Mikrogramm/l (Roßkamp, 1987)

Murr bei Backnang, BRD 2,4-9,8 Mikrogramm/l (Roßkamp, 1987)

Bodensee, BRD 0,3 Mikrogramm/l (Roßkamp, 1987)

Rhein bei Oppenheim, BRD 0,4 Mikrogramm/l (Roßkamp, 1987)

Rur Stausee Obermanbach 0,3-4 Mikrogramm/l (Roßkamp, 1987)  
BRD

Trinkwasser, Florida <0,03-0,34 Mikrogramm/l

USA <0,03-0,11 Mikrogramm/l

See, Mississippi

bei einem Unfall wurde PCP frei:

USA

16-147 Mikrogramm/l kurz nach dem

Unfall

5-16 Mikrogramm/l, 2 Monate später

### Genotoxizität

Negativ im Test mit Salmonella typhimurium (5000 Mikrogramm/Platte, 48h; Moriya et al, 1983), (30 Mikrogramm/Platte, 48h; Zeiger et al., 1983), mutagene Wirkung bei Saccharomyces cerevisiae (Anonym, 1987), Zunahme an Chromosomenaberrationen in Lymphozytenkulturen von "PCP-Arbeitern" (Anonym, 1987).

4-ChloranilinEigenschaften und Wirkungsweise (Verschueren, 1977)

|                       |                                       |
|-----------------------|---------------------------------------|
| Common name:          | 4-chloranilin, p-chloranilin          |
| Chemische Bezeichnung | 4-chlorophenylamin                    |
| Summenformel:         | $\text{ClC}_6\text{H}_4\text{NH}_2$   |
| Schmelzpunkt:         | 70/72 °C                              |
| Dampfdruck:           | 0,015 mm bei 20°C<br>0,05 mm bei 30°C |
| Wasserlöslichkeit:    | 2,62 g/l (Rudolph und Boje, 1986)     |

Bei 4-Chloranilin handelt es sich nicht um ein Pestizid, allerdings entsteht diese Substanz sowohl bei der Herstellung als auch beim Abbau von Pestiziden und wurde aus diesem Grund in die Arbeit mitaufgenommen. (Shafik, 1980).

Wirkung auf aquatische Organismen

Salmo gairdneri LC<sub>50</sub>(96h): 14 mg/l (Verschueren, 1977)

Pimephales promelas LC<sub>50</sub>(96h): 12 mg/l (Verschueren, 1977)

Ictalurus punctatus LC<sub>50</sub>(96h): 23 mg/l (Verschueren, 1977)

Lepomis macrochirus LC<sub>50</sub>(96h): 2 mg/l (Verschueren, 1977)

Kontamination von Gewässern

|                   |                                                   |
|-------------------|---------------------------------------------------|
| Rhein, 1984, BRD  | 1 Mikrogramm/l (Rudolph und Boje, 1986)           |
| Fluß, 1975-79, NL | 0-2,2 Mikrogramm/l (Rudolph und<br>Boje, 1986)    |
| Fluß, 1979, NL    | bis 0,3 Mikrogramm/l (Rudolph und<br>Boje, 1986)  |
| Rhein, 1979, NL   | bis 0,74 Mikrogramm/l (Rudolph und<br>Boje, 1986) |

Genotoxizität

4-Chloranilin erwies sich als nicht mutagen im UDS-Test mit Primärzellkulturen von Rattenhepatozyten (50 nmol/ml), ebenso wenig im Bakterienmutationstest mit Salmonella typhimurium und Escherichia coli (Thompson et al., 1983). Das Ergebnis wurde bestätigt von Rashid und anderen (1987), welche im Test mit Salmonella typhimurium (1000 Mikrogramm/plate) ebenfalls von einem negativen Ergebnis berichten. Mitchel et al. (1988) sowie Myr und Caspary (1988) testeten 4-Chloranilin im Mouse Lymphoma Test und erhielten ein positives Ergebnis insbesondere nach metabolischer Aktivierung der Testsubstanz (ohne metabolische Aktivierung positive Reaktion bei 500 Mikrogramm/ml, 4h; mit metabolischer Aktivierung positive Reaktion bei 19,7 Mikrogramm/ml, 4h).

### 3. Material und Methoden

#### **3.1. Zellkulturtechnik**

Die Kultivierung der Zellen (R<sub>1</sub>-Zellen, Forellenleberzellen, Ahne, 1985, 60.-90. Subkultur) erfolgte bei 20°C in Zellkulturflaschen mit einer Wachstumsfläche von 75 cm<sup>2</sup> (Greiner). Verwendetes Kulturmedium war TC 199 (Morgan et al. 1950). Dieses Trockenmedium (mit Earle's Salzen, L-Glutamin, ohne Natriumhydrogenkarbonat) wurde in dreifach destilliertem Wasser gelöst und mit 0,85 g Natriumhydrogenkarbonat pro Liter sowie mit 10 ml einer 1 Molaren Hepeslösung pro Liter und mit 10% fetalem Kälberserum angereichert. Nach pH-Einstellung erfolgte Sterilfiltration und Aufbewahrung bei -20 °C. Zum Gebrauch wurde dem aufgetauten Medium Penicillin (100 IE/ml) und Streptomycin (100 Mikrogramm/ml) hinzugefügt. Die Subkultivierung der Zellen erfolgte mit einer Salinen Trypsin-Versen-Lösung (STV), (Markus et al., 1956). Um die Zellen in ständiger Teilungsaktivität zu halten, wurden diese einmal pro Woche 1:2 subkultiviert.

### 3.2. Zytotoxizitätstest

Der Zytotoxizitätstest wurde nach der von Ahne (1985) beschriebenen Methode mit den R1-Zellen durchgeführt.

Verwendung fanden hierbei Mikrotiterplatten (Nunc), deren Vertiefungen zuerst jeweils mit 0,1 ml der in 2er Potenzen verdünnten Testlösung und anschließend mit 0,1 ml Zellsuspension ( $2 \times 10^5$  Zellen/ml) gefüllt wurden. Die Beurteilung der Zellen erfolgte mikroskopisch nach 24h und 48h, sowohl im nativen als auch im gefärbten (Kristallviolett) Zustand. Als Parameter der Zytotoxizität galten Zellmorphologie und Zellvermehrung.

Die ermittelten Toxizitätsgrenzen ergaben die Basis zur weiteren Untersuchung der Substanzen im Anaphaseaberrationstest. Bei toxisch reagierenden Substanzen wurde jeweils die Konzentration der letzten toxischen Stufe und die Konzentration der ersten nichttoxischen Stufe verwendet.

### 3.3. Anaphaseaberrationstest

Der Anaphaseaberrationstest wurde nach den Methoden von Kocan et al. (1982), Nichols (1984), Kocan und Powell (1985) durchgeführt. Hierzu sind 48 h nach der Subkultivierung die Zellen erneut geteilt worden. Anstelle von Petrischalen (Kocan et al., 1982, Nichols, 1984) oder Leighton Tubes (Kocan et al., 1985) fanden Multiwellschalen mit 6 Vertiefungen (Nunc) Verwendung. In jede dieser Vertiefungen wurden alkoholgereinigte, halbierte Deckgläser (50x8 mm) gelegt und anschließend 2 ml Zellsuspension ( $4 \times 10^5$  Zellen/ml) einpipettiert. Nach 1 h kamen jeweils 2 ml der Testsubstanz hinzu. Nach der Inkubation von 48 h bei 20 °C wurde

das Medium mit der Testsubstanz aus den Vertiefungen mittels einer Pasteurpipette entfernt, die Zellkulturen mit PBS (Phosphat Buffered Saline), (Dulbecco und Vogt, 1954) gespült und 1 Stunde mit einer Mischung aus Methanol:Eisessig (3:1) fixiert. Anschließend sind die Deckgläser an der Luft getrocknet worden. Die Färbung wurde nach Nichols (1984) durchgeführt. Anstelle einer 5%igen Giemsalösung mit Methanol und Phosphatpuffer fand 10%ige Giemsalösung (Merck), angesetzt mit destilliertem Wasser (pH 4,5), Verwendung. Die Färbedauer betrug 3 Minuten. Anschließend erfolgte das Spülen der Deckgläser für 10 Sekunden mit destilliertem Wasser (pH 4,5) und die Behandlung mit Aceton (1 Minute). Entwässert wurden die Zellen mit einer Mischung aus Aceton:Xylol (1:1) für 10 Minuten. Die mit Eukitt eingebetteten Präparate sind mikroskopisch ausgewertet worden, wobei je Testansatz 100 Anaphase-konfigurationen nach folgenden Kriterien (Kocan et al., 1982) untersucht wurden:

- Fragmentbildung,
- Brückenbildung,
- Verzögert auseinanderweichende Chromosomen,
- mehrpolige Anaphasen.

### 3.4. Vortest mit den bekannten Mutagenen Mitomycin C und Benzo(a)pyrene

Der Vortest diente dazu die Sensibilität der R1-Zellen (Forellenleberzellen), (Ahne, 1985) für den Anaphaseaberrationstest anhand zweier bekannter ,mutagener Substanzen zu untersuchen.

a) Mitomycin C, ein direkt wirkendes Mutagen

b) Benzo(a)pyrene, ein Promutagen

Die Durchführung des Vortestes erfolgte im Doppelversuch d.h. 2 Testansätze pro Substanz und Konzentration, dazu je 2 Testansätze für die unbehandelte Kontrolle und die Kontrolle mit DMSO (Dimethylsulfoxid, in der höchsten verwendeten Konzentration). Die Durchführung des Anaphaseaberrationstestes erfolgte wie oben angegeben . Ausgewertet wurden die Testansätze jeweils nach 24 und nach 48 Stunden. 2 bekannte Mutagene wurden als Kontrollsubstanzen im Test mitgeführt: Mitomycin C und Benzo(a)pyrene, letzteres gilt als Promutagen (Kocan et al., 1982). Beide Substanzen wurden von der Firma Sigma, München, in Trockenform bezogen und in PBS (Mitomycin C) bzw. in DMSO (Benzo(a)pyrene) gelöst (Kocan et al., 1982). Folgende Konzentrationen der Stammlösungen fanden Verwendung:

- Mitomycin C: 1000 Nanogramm/ml PBS
- Benzo(a)pyrene: 100 Mikrogramm/ml DMSO
- 10 Mikrogramm/ml DMSO

Im Versuch wurden 3 Konzentrationen pro Substanz angesetzt :

- Mitomycin C: 10, 20, 30 Nanogramm/ml Medium
- Benzo(a)pyrene: 0,1, 0,5, 1 Mikrogramm/ml Medium

### 3.5. Testsubstanzen

Die Auswahl der verwendeten Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel erfolgte nach folgenden Kriterien:

- die Wasserlöslichkeit sollte laut Literatur mindestens 50 mg/l betragen. Ausnahmen sind Atrazin, Hexachlorbenzol, Lindan, Linuron und Pentachlorphenol. Diese Substanzen wurden entweder als wässrige Lösungen mit bekannter Konzentration von der Bayerischen Landesanstalt für Wasserforschung (BLWF) München zur Verfügung gestellt oder in gesättigter Konzentration selbst hergestellt und von oben genanntem Institut eine genaue Konzentrationsmessung vorgenommen.
- es sollten Angaben über Konzentrationen dieser Substanzen in Oberflächen- und Grundwasser vorhanden sein.
- die betreffenden Substanzen sollen in der BRD angewendet werden. Ausnahme hierbei ist das Hexachlorbenzol, das in der BRD verboten ist, allerdings wegen des früheren Einsatzes noch im Ökosystem vorhanden ist.

Alachlor, Carbofuran, Cyanazin, 2,4-D, Dicamba, Dimethoat, Metribuzin, Metoxuron und Metolachlor wurden von der Firma Ehrenstorfer, Augsburg, in kristalliner Form, mit Ausnahme von Metolachlor, welches in flüssiger Form geliefert wurde, bezogen. 4-Chloranilin stammte von der Firma Aldrich-Chemie, Steinheim. Die Substanzen wurden gewogen, in Glasflaschen eingefüllt und mit dreifach destilliertem, autoklaviertem Wasser unter ständigem Rühren (Magnetrührer) bei 20 °C gelöst. Erfolgte nach dreißigstündigem Rühren keine Lösung der Substanzen entsprechend der in der Literatur (Quentin et al., 1987; Rudolph und Boje, 1986) angegebenen Menge, so wurden diese auf die Hälfte reduziert und

erneut gelöst. Da Metolachlor wegen seiner Zähflüssigkeit weder exakt pipettiert noch aus dem Wägegefäß entfernt werden konnte, wurden 2 Tropfen der Substanz zur Probe einzeln gewogen (Ergebnis: 2 mal je 84mg/Tropfen) und anschließend ein Tropfen der Substanz in 200 ml destilliertes Wasser getropft. Die ermittelten Löslichkeiten der Testsubstanzen sind in Tab. 3 dargestellt.

Tab.3

Löslichkeiten der verwendeten Testsubstanzen bei 20°C

| Substanz             | Lösungsmittel | Löslichkeit |
|----------------------|---------------|-------------|
| <u>Alachlor</u>      | aqua tridest. | 100 mg/l    |
| <u>Carbofuran</u>    | aqua tridest. | 62,5 mg/l   |
| <u>Cyanazin</u>      | aqua tridest. | 85 mg/l     |
| <u>2,4-D</u>         | aqua tridest. | 500 mg/l    |
| <u>Dicamba</u>       | aqua tridest. | 3,95 g/l    |
| <u>Dimethoat</u>     | aqua tridest. | 25 g/l      |
| <u>Metribuzin</u>    | aqua tridest. | 610 mg/l    |
| <u>Metoxuron</u>     | aqua tridest. | 355 mg/l    |
| <u>Metolachlor</u>   | aqua tridest. | 420 mg/l    |
| <u>4-Chloranilin</u> | aqua tridest. | 2,62 g/l    |

Atrazin, Hexachlorbenzol, Lindan, Linuron wurden als wässrige Lösungen mit bekannter Konzentration von der Bayerischen Landesanstalt für Wasserforschung (BLWF) München zur Verfügung gestellt. Pentachlorphenol wurde als gesättigte Lösung hergestellt und die Konzentration ist von der BLWF gemessen worden.

Folgende Konzentrationen fanden Verwendung:

Atrazin: 41 mg/l und 50 mg/l

Hexachlorbenzol: 14 Mikrogramm/l

Lindan: 6,6 - 7,6 mg/l

Linuron: 20 mg/l und 50 mg/l

Pentachlorphenol: 11,4 mg/l

Jeder Testdurchgang war von einer positiven Kontrolle (Mitomycin C, 30 ng/ml Medium) und von einer negativen Kontrolle (destilliertes Wasser in gleicher Menge wie im Testansatz) begleitet.

Substanzen, welche eine positive Reaktion im Anaphase-aberrationstest zeigten, wurden zu Ermittlung der Dosis-Wirkungsbeziehung in 10er Potenzen, Hexachlorbenzol in 2er Potenzen, verdünnt und erneut getestet (6 Stufen pro Substanz).

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Zytotoxizitätstest

Folgende Substanzen ließen in den angegebenen Konzentrationen keine zellverändernden Wirkungen im Zytotoxizitätstest erkennen:

Atrazin (41 mg/l), Carbofuran (62,5 mg/l) , 2,4-D (500 mg/l), HCB (14 Mikrogramm/l), Lindan (6,6-7,6 mg/l), Linuron ( 20 mg/l), Metribuzin (610 mg/l), PCP (11,4 mg/ml ). Für den Anaphaseaberrationstest wurden die genannten Konzentrationen verwendet.

Bei Cyanazin war die 1:1 Verdünnung die letzte toxische Stufe mit einer geringgradigen Zytotoxizität (1+) sowohl nach 24h als auch nach 48h . Dicamba und Metoxuron zeigten nach 24h und 48h die letzte toxische Reaktion in der 1:2 Verdünnungsstufe mit einer Zytotoxizität von 1+ (nach 24h und 48h). Bei Alachlor, Dimethoat und 4-Chloranilin lag die letzte toxische Stufe bei der 1:8 Verdünnung und die Zytotoxizität wurde jeweils mit 1+ bewertet (24h und 48h). Metolachlor zeigte nach 24h die letzte zytotoxische Reaktion bei der 1:8 Verdünnung, bzw. nach 48h bei der 1:16 Verdünnung, die Zytotoxizität lag jeweils bei 1+. Die Bewertung der Zytotoxizität ist in Tabelle 4 angegeben. Da jeweils die letzte toxische und die erste nichttoxische Konzentration im Anaphaseaberrationstest geprüft wurde, fanden folgende Konzentrationen in den Stammlösungen Verwendung: Alachlor: 12,5 und 6,25 mg/l; Cyanazin: 85 mg/l und 42,5 mg/l; Dicamba: 1,96 g/l und 0,98 g/l; Dimethoat: 3,13 g/l und 1,56 g/l; Metolachlor: 52,5 mg/l, 26,3 mg/l und 13,15 mg/l; Metoxuron: 177,6 mg/l und 88,8 mg/l; 4-Chloranilin: 327,5 mg/l und 163,5 mg/l.

Tabelle 4

Ermittlung der Zytotoxizität von verschiedenen Substanzen für R1-Zellen (20°C)

| Substanz             | Konzentration   | letzte toxische Stufe |      | Bewertung |
|----------------------|-----------------|-----------------------|------|-----------|
|                      |                 | 24h                   | 48h  |           |
| <u>Alachlor</u>      | 100 mg/l        | 1:8                   | 1:8  | 1+        |
| <u>Atrazin</u>       | 41 mg/l         | -                     | -    | -         |
| <u>Carbofuran</u>    | 62,5 mg/l       | -                     | -    | -         |
| <u>Cyanazin</u>      | 85 mg/l         | 1:1                   | 1:1  | 1+        |
| <u>2,4-D</u>         | 500 mg/l        | -                     | -    | -         |
| <u>Dicamba</u>       | 3,95 g/l        | 1:2                   | 1:2  | 1+        |
| <u>Dimethoat</u>     | 25 g/l          | 1:8                   | 1:8  | 1+        |
| <u>HCB</u>           | 14 Mikrogramm/l | -                     | -    | -         |
| <u>Lindan</u>        | 6,6-7,6 mg/l    | -                     | -    | -         |
| <u>Linuron</u>       | 20 mg/l         | -                     | -    | -         |
| <u>Metolachlor</u>   | 420 mg/l        | 1:8                   | 1:16 | 1+        |
| <u>Metoxuron</u>     | 355 mg/l        | 1:2                   | 1:2  | 1+        |
| <u>Metribuzin</u>    | 610 mg/l        | -                     | -    | -         |
| <u>PCP</u>           | 11,4 mg/l       | -                     | -    | -         |
| <u>4-Chloranilin</u> | 2,62 g/l        | 1:8                   | 1:8  | 1+        |

1+ geringe Toxizität

- keine Toxizität

#### 4.2. Ermittlung der Anaphaseaberrationsrate der mit Lösungsmittel (dest. Wasser) und der mit Mitomycin C behandelten R1-Zellen

Die Auswertung der mit destilliertem Wasser behandelten R1-Zellen aus 11 Testansätzen zeigte eine durchschnittliche Anaphaseaberrationsrate von 12,9%. Folgende Einzelergebnisse wurden ermittelt (die Zahlen stellen jeweils die Mittelwerte aus zwei Kontrolluntersuchungen dar, in Klammern stehen die Einzelwerte):

13,5 (13,14), 15 (15,15), 12,5 (12,13), 11 (10,12), 11 (10,12), 14 (13,15), 12,5 (11,14), 13 (14,12), 12,5 (13,12), 13,5 (14,13), 13,5 (14,13).

Bei der Kontrollsubstanz Mitomycin C ergab sich eine mittlere Aberrationsrate von 81,85% mit folgenden Einzelergebnissen:

78,5 (78,79), 79,5 (77,82), 85 (85,85), 79,5 (79,80), 84,5 (86,83), 82,5 (84,81), 82,5 (83,82), 79,5 (79,80), 83,5 (83,84), 83,5 (84,83).

#### Beurteilung der Ergebnisse :

Ausgehend vom Mittelwert der Anaphaseaberrationsrate der mit Lösungsmittel (dest. Wasser) behandelten R1-Zellen wurde in Anbetracht des Minimalwertes von 10% und des Maximalwertes von 15% eine Erhöhung der abnormen Anaphasezahl von 16-19% als fraglich hinsichtlich der Genotoxizität beurteilt. Ab der Aberrationsrate von 19,5% wurde eine Substanz als mutagen in Bezug auf vorliegende Arbeit mit R1-Zellen angesehen.

### 4.3. Vorteste mit Benzo(a)pyrene und Mitomycin C

Sowohl Benzo(a)pyrene als auch Mitomycin C induzierten bei R1-Zellen nach 24h und nach 48h Inkubationszeit Anaphaseaberrationen. Beide Substanzen zeigten eine deutliche zeit- und konzentrationsabhängige Reaktion, d.h. je höher die Konzentration und je länger die Inkubationsdauer war, desto mehr Anaphaseaberrationen traten auf (Tab.5 und 6). Die Abb.1 zeigt die Mittelwerte der Aberrationen graphisch dargestellt.

Tabelle 5

Ermittlung der Anaphaseaberrationen der R1-Zellen (20°C) mit Mitomycin C (MMC, 10; 20; 30 Nanogramm/ml Medium) und Benzo(a)pyrene (B(a)P, 0,1; 0,5; 1 Mikrogramm/ml Medium) nach 24 stündiger Behandlung. Angaben in Prozent.

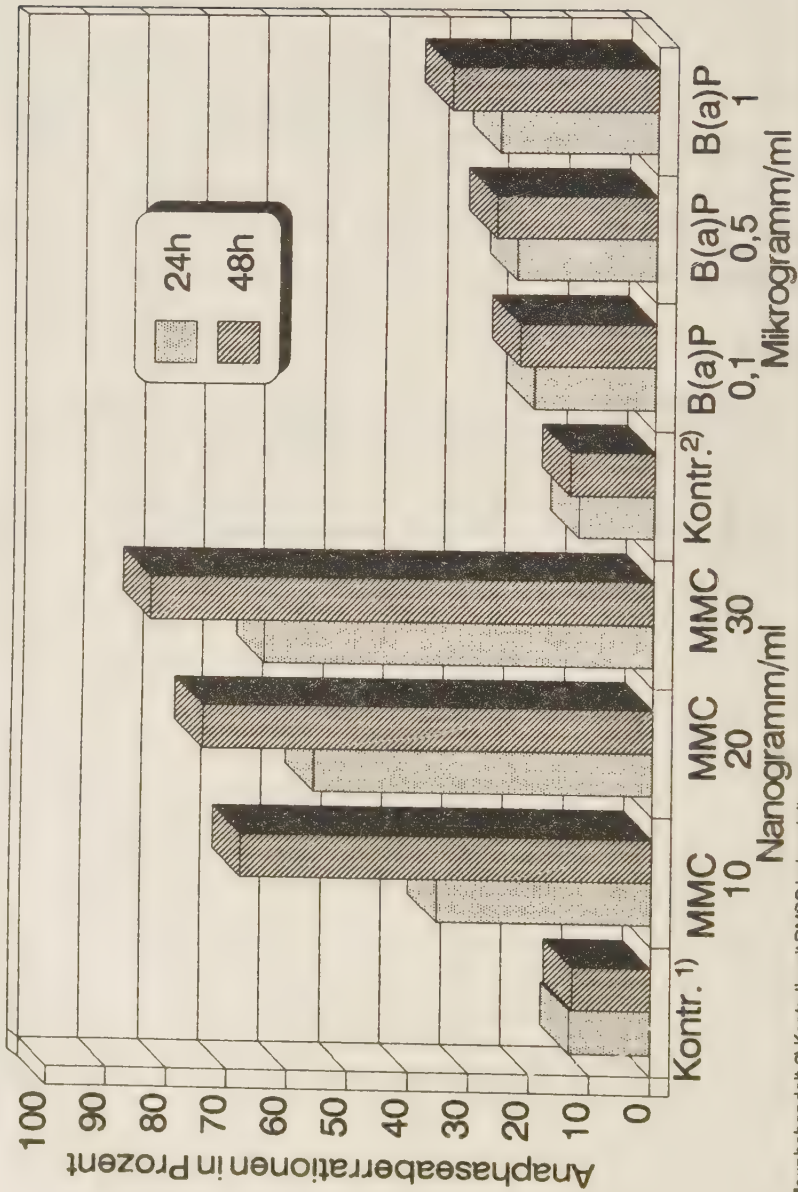
|           | normale<br>Anaphasen | Fragmente | verzögert auseinander-<br>weichende Chromosomen | Brücken | mehrpulige<br>Anaphasen | Gesamte<br>Aberrationen |
|-----------|----------------------|-----------|-------------------------------------------------|---------|-------------------------|-------------------------|
| Kontrolle | 86                   | 1         | 7                                               | 5       | 1                       | 14                      |
|           | 87                   | 1         | 6                                               | 5       | 1                       | 13                      |
| Kontrolle | 87                   | 0         | 5                                               | 8       | 0                       | 13                      |
| +DMSO     | 88                   | 1         | 6                                               | 4       | 1                       | 12                      |
| MMC 10    | 65                   | 1         | 25                                              | 9       | 0                       | 35                      |
|           | 64                   | 2         | 25                                              | 9       | 0                       | 36                      |
| MMC 20    | 45                   | 9         | 35                                              | 11      | 0                       | 55                      |
|           | 43                   | 10        | 36                                              | 11      | 0                       | 57                      |
| MMC 30    | 37                   | 18        | 29                                              | 16      | 0                       | 63                      |
|           | 33                   | 18        | 29                                              | 20      | 0                       | 67                      |
| B(a)P 0,1 | 81                   | 0         | 9                                               | 8       | 2                       | 19                      |
|           | 79                   | 1         | 7                                               | 12      | 1                       | 21                      |
| B(a)P 0,5 | 78                   | 1         | 9                                               | 12      | 0                       | 22                      |
|           | 76                   | 0         | 11                                              | 12      | 1                       | 24                      |
| B(a)P 1   | 75                   | 0         | 8                                               | 15      | 2                       | 25                      |
|           | 73                   | 2         | 12                                              | 13      | 0                       | 27                      |

Tabelle 6

Ermittlung der Anaphaseaberrationen mit R1-Zellen (20°C) mit Mitomycin C (MMC, 10; 20; 30 Nanogramm/ml Medium) und Benzo(a)pyrene (B(a)P, 0,1; 0,5; 1 Mikrogramm/ml Medium) nach 48 stündiger Behandlung. Angaben in Prozent.

|           | normale<br>Anaphasen | Fragmente | verzögert auseinander-<br>weichende Chromosomen | Brücken | mehrpulige<br>Anaphasen | Gesamte<br>Aberrationen |
|-----------|----------------------|-----------|-------------------------------------------------|---------|-------------------------|-------------------------|
| Kontrolle | 87                   | 0         | 10                                              | 3       | 0                       | 13                      |
|           | 87                   | 0         | 5                                               | 8       | 0                       | 13                      |
| Kontrolle | 85                   | 1         | 5                                               | 9       | 0                       | 15                      |
| +DMSO     | 87                   | 3         | 6                                               | 4       | 0                       | 13                      |
| MMC 10    | 32                   | 10        | 48                                              | 10      | 0                       | 68                      |
|           | 32                   | 8         | 48                                              | 12      | 0                       | 68                      |
| MMC 20    | 26                   | 12        | 44                                              | 18      | 0                       | 74                      |
|           | 25                   | 11        | 44                                              | 19      | 1                       | 75                      |
| MMC 30    | 16                   | 16        | 43                                              | 25      | 0                       | 84                      |
|           | 17                   | 11        | 46                                              | 26      | 0                       | 83                      |
| B(a)P 0,1 | 79                   | 2         | 7                                               | 12      | 0                       | 21                      |
|           | 76                   | 0         | 10                                              | 14      | 0                       | 24                      |
| B(a)P 0,5 | 72                   | 4         | 13                                              | 11      | 0                       | 28                      |
|           | 73                   | 2         | 12                                              | 13      | 0                       | 27                      |
| B(a)P 1   | 65                   | 2         | 12                                              | 20      | 1                       | 35                      |
|           | 67                   | 5         | 12                                              | 14      | 2                       | 33                      |

Abb. 1. Anaphaseaberrationen der R1- Zellen , unter Einwirkung von Mitomycin C (MMC) und Benzo(a)pyrene (B(a)P) (24 und 48 Stunden Einwirkungszeit; 20 °C)



1) Kontrolle unbehandelt; 2) Kontrolle mit DMSO behandelt

#### 4.4. Ergebnisse des Anaphaseaberrationstestes mit den verwendeten Testsubstanzen

Von den 15 getesteten Substanzen erwiesen sich 7 als mutagen (bei der jeweils höchsten verwendeten Konzentration): Atrazin (25 Mikrogramm/ml), 2,4-D (0,25 mg/ml), HCB (7 ng/ml), Lindan (3,55 Mikrogramm/ml), Metoxuron (88,8 Mikrogramm/ml), PCP (5,7 Mikrogramm/ml), 4-Chloranilin (163,5 Mikrogramm/ml). Die beiden Substanzen Metoxuron und 4-Chloranilin, welche im Zytotoxizitätstest toxisch reagierten und aus diesem Grund sowohl in der letzten toxischen Konzentrationsstufe (Metoxuron 88,8 Mikrogramm/ml; 4-Chloranilin 163,5 Mikrogramm/ml) als auch in der 1. nichttoxischen Konzentrationsstufe (Metoxuron 44,4 Mikrogramm/ml; 4-Chloranilin 81,8 Mikrogramm/ml) geprüft wurden, zeigten in beiden Stufen eine positive Reaktion. Alachlor bewirkte in der letzten toxischen Konzentrationsstufe (6,25 Mikrogramm/ml) eine positive Reaktion, die sich jedoch in der nichttoxischen Konzentrationsstufe (3,13 Mikrogramm/ml) nicht mehr nachweisen ließ. Carbofuran zeigte lediglich eine Tendenz zu genotoxischer Wirksamkeit. Bei der Verdünnung dieser Substanz auf die Hälfte der Konzentration (15,7 Mikrogramm/ml) setzte sich die positive Tendenz fort, erst die Verdünnung der Substanz auf ein Viertel der ursprünglichen Konzentration (7,85 Mikrogramm/ml) erbrachte eine Erniedrigung der Anaphaseaberrationsrate auf das Niveau der Kontrollwerte (10-15%). 6 der Testsubstanzen reagierten nicht mutagen: Cyanazin (42,5 Mikrogramm/ml), Dicamba (0,98 mg/ml), Dimethoat (1,56 mg/ml), Linuron (25 Mikrogramm/ml), Metolachlor (26,3 Mikrogramm/ml), Metribuzin (305 Mikrogramm/ml). Die Einzelergebnisse finden sich in Tabelle 7. Die Abbildung 2 zeigt die graphische Darstellung der Testergebnisse der genotoxisch reagierenden Substanzen.

Tabelle 7

Ermittlung der Anaphaseaberrationen der R1-Zellen mit den Testsubstanzen (20°C, 48 stündige Inkubationszeit) . Angaben in Prozent.

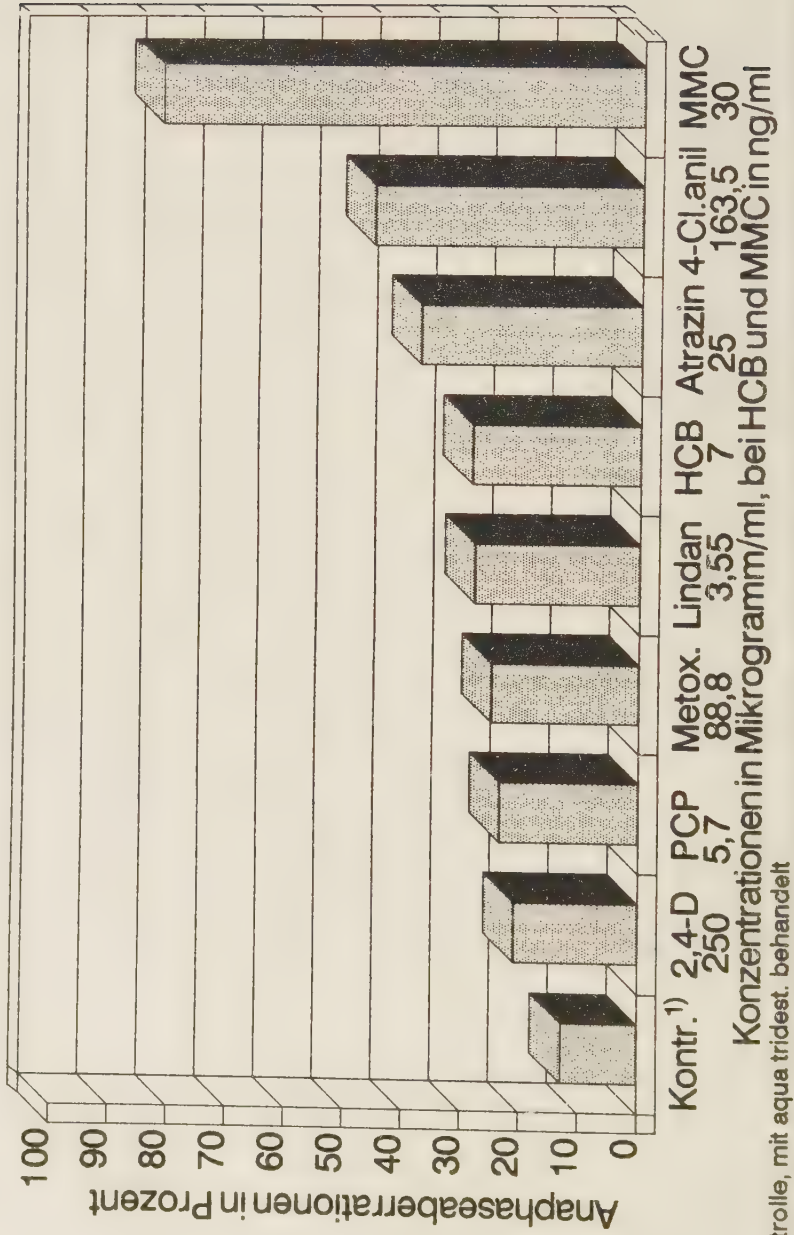
|                                         | normale<br>Anaphasen | Fragmente | verzögert auseinander-<br>weichende Chromosomen | Brücken  | mehrpulige<br>Anaphasen | Gesamte<br>Aberrationen |
|-----------------------------------------|----------------------|-----------|-------------------------------------------------|----------|-------------------------|-------------------------|
| Kontrolle<br>(Mittelwerte)              | 87,1                 | 1,7       | 5,7                                             | 5,1      | 0,4                     | 12,9                    |
| <u>MMC</u><br>30 ng/ml<br>(Mittelwerte) | 18,15                | 26,4      | 35,85                                           | 18,9     | 0,7                     | 81,85                   |
| <u>Alachlor</u><br>6,25 µg/ml           | 80<br>78             | 2<br>2    | 9<br>9                                          | 9<br>8   | 0<br>3                  | 20<br>22                |
| <u>Alachlor</u><br>3,13 µg/ml           | 85<br>87             | 1<br>1    | 7<br>5                                          | 6<br>4   | 1<br>3                  | 15<br>13                |
| <u>Atrazin</u><br>20,5 µg/ml            | 67<br>72             | 4<br>2    | 24<br>21                                        | 3<br>3   | 2<br>2                  | 33<br>28                |
| <u>Atrazin</u><br>25 µg/ml              | 61<br>64             | 5<br>4    | 13<br>10                                        | 19<br>19 | 2<br>3                  | 39<br>36                |
| <u>Carbofuran</u><br>31,3 µg/ml         | 83<br>82             | 6<br>3    | 4<br>8                                          | 6<br>7   | 1<br>0                  | 17<br>18                |
| <u>Carbofuran</u><br>15,7 µg/ml         | 80<br>83             | 2<br>2    | 8<br>6                                          | 7<br>7   | 3<br>2                  | 20<br>17                |
| <u>Carbofuran</u><br>7,85 µg/ml         | 86<br>85             | 0<br>2    | 6<br>5                                          | 8<br>7   | 0<br>1                  | 14<br>15                |
| <u>Cyanazin</u><br>42,5 µg/ml           | 84<br>86             | 1<br>1    | 8<br>5                                          | 7<br>7   | 0<br>1                  | 16<br>14                |
| <u>Cyanazin</u><br>21,3 µg/ml           | 86<br>87             | 2<br>2    | 5<br>7                                          | 7<br>4   | 0<br>0                  | 14<br>13                |
| <u>2,4-D</u><br>0,25 mg/ml              | 76<br>77             | 7<br>6    | 8<br>12                                         | 8<br>5   | 1<br>0                  | 24<br>23                |
| <u>Dicamba</u><br>0,98 mg/ml            | 88<br>85             | 1<br>3    | 3<br>7                                          | 8<br>5   | 0<br>0                  | 12<br>15                |
| <u>Dicamba</u><br>0,49 mg/ml            | 89<br>87             | 0<br>2    | 6<br>7                                          | 5<br>4   | 0<br>0                  | 11<br>13                |

Fortsetzung von Tab.7 auf der folgenden Seite

## Fortsetzung von Tab.7

|                   |    |   |    |    |    |    |
|-------------------|----|---|----|----|----|----|
| <u>Dimethoat</u>  | 87 | 0 | 5  | 8  | 0  | 13 |
| 1,56 mg/ml        | 85 | 1 | 9  | 5  | 0  | 15 |
| <u>Dimethoat</u>  | 87 | 4 | 5  | 4  | 0  | 13 |
| 0,78 mg/ml        | 86 | 3 | 5  | 6  | 0  | 14 |
| <u>HCB</u>        | 73 | 4 | 20 | 2  | 1  | 27 |
| 7 ng/ml           | 74 | 4 | 16 | 6  | 0  | 26 |
| <u>Lindan</u>     | 73 | 3 | 21 | 2  | 1  | 27 |
| 3,55 ug/ml        | 78 | 2 | 19 | 1  | 0  | 22 |
| <u>Linuron</u>    | 87 | 3 | 4  | 5  | 1  | 13 |
| 10 ug/ml          | 87 | 3 | 8  | 1  | 1  | 13 |
| <u>Linuron</u>    | 86 | 1 | 8  | 5  | 0  | 14 |
| 25 ug/ml          | 86 | 4 | 2  | 7  | 1  | 14 |
| <u>Metolachl.</u> | 85 | 7 | 4  | 4  | 0  | 15 |
| 26,3 ug/ml        | 85 | 3 | 6  | 6  | 0  | 15 |
| <u>Metolachl.</u> | 83 | 1 | 11 | 5  | 0  | 17 |
| 13,1 ug/ml        | 86 | 1 | 6  | 7  | 0  | 14 |
| <u>Metolachl.</u> | 84 | 5 | 4  | 6  | 1  | 16 |
| 6,56 ug/ml        | 87 | 2 | 6  | 5  | 0  | 13 |
| <u>Metoxuron</u>  | 77 | 2 | 6  | 7  | 8  | 23 |
| 88,8 ug/ml        | 77 | 4 | 7  | 7  | 5  | 23 |
| <u>Metoxuron</u>  | 76 | 3 | 11 | 8  | 2  | 24 |
| 44,4 ug/ml        | 78 | 3 | 6  | 8  | 5  | 22 |
| <u>Metribuzin</u> | 86 | 7 | 3  | 2  | 2  | 14 |
| 305 ug/ml         | 87 | 4 | 2  | 3  | 4  | 13 |
| <u>PCP</u>        | 79 | 1 | 7  | 13 | 0  | 21 |
| 5,7 ug/ml         | 77 | 1 | 8  | 13 | 1  | 23 |
| <u>Chloranil.</u> | 49 | 4 | 8  | 8  | 31 | 51 |
| 163,5ug/ml        | 46 | 5 | 8  | 8  | 33 | 54 |
| <u>Chloranil.</u> | 58 | 5 | 13 | 4  | 20 | 42 |
| 81,8 ug/ml        | 54 | 6 | 17 | 4  | 19 | 46 |

Abb.2 Anaphaseaberrationen der R1-Zellen unter Einwirkung von 2,4-D, PCP, Metoxuron (Metox.), Lindan, HCB, Atrazin, 4-Chloranilin (4-Cl.anil), Mitomycin C (MMC, positive Kontrolle),(24 und 48 Stunden Einwirkungszeit; 20 °C)



#### **4.5. Dosis-Wirkungsbeziehungen der im Anaphaseaberrationstest positiv reagierenden Substanzen**

Nachstehend aufgeführte Substanzkonzentrationen bildeten den Grenzbereich, in dem noch eine Erhöhung der Anaphaseaberrationsrate deutlich zu erkennen war:

Atrazin: 0,025 Mikrogramm/ml (Tab.8, Abb.3)

2,4-D: 250 Mikrogramm/ml (Tab.9, Abb.5)

HCB: 1,75 ng/ml (Tab.10, Abb.7)

Lindan: 355 ng/ml (Tab.11, Abb.9)

Metoxuron: 0,88 Mikrogramm/ml (Tab.12, Abb.11)

PCP: 0,75 Mikrogramm/ml (Tab.13, Abb.13)

4-Chloranilin : 0,164 Mikrogramm/ml (Tab.14, Abb.15)

Tabelle 8

Ermittlung der Anaphaseaberrationen der R1-Zellen (20°C; 48 stündige Inkubationszeit) mit einer Konzentrationsreihe von Atrazin (25;2,5;0,25;0,025;0,0025;0,00025 µg/ml). Angaben in Prozent.

| Konz. in<br>µg/ml                | normale<br>Anaphasen | Fragmente | verzögert auseinander-<br>weichende Chromosomen | Brücken  | mehrpole<br>Anaphasen | Gesamte<br>Aberrationen |
|----------------------------------|----------------------|-----------|-------------------------------------------------|----------|-----------------------|-------------------------|
| Kontrolle<br>(Mittelwerte)       | 87,1                 | 1,7       | 5,7                                             | 5,1      | 0,4                   | 12,9                    |
| MMC<br>30 ng/ml<br>(Mittelwerte) | 18,15                | 26,4      | 35,85                                           | 18,9     | 0,7                   | 81,85                   |
| 25                               | 61<br>64             | 5<br>4    | 13<br>10                                        | 19<br>19 | 2<br>3                | 39<br>36                |
| 2,5                              | 71<br>72             | 5<br>3    | 9<br>10                                         | 12<br>13 | 3<br>2                | 29<br>28                |
| 0,25                             | 75<br>73             | 3<br>3    | 11<br>11                                        | 10<br>11 | 1<br>2                | 25<br>27                |
| 0,025                            | 79<br>77             | 6<br>4    | 8<br>10                                         | 5<br>9   | 2<br>0                | 21<br>23                |
| 0,0025                           | 82<br>83             | 1<br>2    | 7<br>9                                          | 10<br>6  | 0<br>0                | 18<br>17                |
| 0,00025                          | 84<br>85             | 1<br>1    | 5<br>5                                          | 9<br>9   | 1<br>0                | 16<br>15                |

Tabelle 9

Ermittlung der Anaphaseaberrationen der R1-Zellen (20°C; 48 stündige Inkubationszeit) mit einer Konzentrationsreihe von 2,4-D (250; 25; 2,5; 0,25; 0,025; 0,0025 µg/ml). Angaben in Prozent.

| Konz. in<br>µg/ml                | normale<br>Anaphasen | Fragmente | verzögert auseinander-<br>weichende Chromosomen | Brücken | mehrpole<br>Anaphasen | Gesamte<br>Aberrationen |
|----------------------------------|----------------------|-----------|-------------------------------------------------|---------|-----------------------|-------------------------|
| Kontrolle<br>(Mittelwerte)       | 97,1                 | 1,7       | 5,7                                             | 5,1     | 0,4                   | 12,9                    |
| MMC<br>30 ng/ml<br>(Mittelwerte) | 18,15                | 26,4      | 35,85                                           | 18,9    | 0,7                   | 81,85                   |
| 250                              | 79<br>79             | 3<br>6    | 12<br>10                                        | 6<br>5  | 0<br>0                | 21<br>21                |
| 25                               | 81<br>83             | 6<br>3    | 7<br>7                                          | 6<br>6  | 0<br>1                | 19<br>17                |
| 2,5                              | 87<br>88             | 2<br>1    | 3<br>6                                          | 8<br>4  | 0<br>1                | 13<br>12                |
| 0,25                             | 86<br>85             | 1<br>3    | 8<br>5                                          | 5<br>7  | 0<br>0                | 14<br>15                |
| 0,025                            | 85<br>85             | 2<br>3    | 5<br>5                                          | 8<br>6  | 0<br>1                | 15<br>15                |
| 0,0025                           | 89<br>88             | 2<br>0    | 5<br>4                                          | 4<br>8  | 0<br>0                | 11<br>12                |

Tabelle 10

Ermittlung der Anaphaseaberrationen der R1-Zellen (20°C; 48 stündige Inkubationszeit) mit einer Konzentrationsreihe von Hexachlorbenzol (7;3,5;1,75;0,88;0,44;0,22 ng/ml).Angaben in Prozent.

| Konz. in<br>ng/ml                | normale<br>Anaphasen | Fragmente | verzögert auseinander-<br>weichende Chromosomen | Brücken  | mehrpulige<br>Anaphasen | Gesamte<br>Aberrationen |
|----------------------------------|----------------------|-----------|-------------------------------------------------|----------|-------------------------|-------------------------|
| Kontrolle<br>(Mittelwerte)       | 87,1                 | 1,7       | 5,7                                             | 5,1      | 0,4                     | 12,9                    |
| MMC<br>30 ng/ml<br>(Mittelwerte) | 18,15                | 26,4      | 35,85                                           | 18,9     | 0,7                     | 81,85                   |
| 7                                | 71<br>72             | 3<br>5    | 12<br>12                                        | 13<br>11 | 1<br>0                  | 29<br>28                |
| 3,5                              | 77<br>77             | 3<br>3    | 9<br>11                                         | 11<br>9  | 0<br>0                  | 23<br>23                |
| 1,75                             | 80<br>81             | 3<br>4    | 11<br>7                                         | 6<br>7   | 0<br>1                  | 20<br>19                |
| 0,88                             | 83<br>82             | 5<br>5    | 6<br>6                                          | 6<br>7   | 0<br>0                  | 17<br>18                |
| 0,44                             | 83<br>85             | 3<br>1    | 5<br>6                                          | 9<br>7   | 0<br>1                  | 17<br>15                |
| 0,22                             | 87<br>88             | 1<br>2    | 4<br>4                                          | 8<br>6   | 0<br>0                  | 13<br>12                |

Tabelle 11

Ermittlung der Anaphaseaberrationen der R1-Zellen (20°C; 48 stündige Inkubationszeit) mit einer Konzentrationsreihe von Lindan (3550; 355; 35,5; 3,55; 0,355; 0,0355 ng/ml). Angaben in Prozent.

| Konz. in<br>ng/ml                | normale<br>Anaphasen | Fragmente | verzögert auseinander-<br>weichende Chromosomen | Brücken  | mehrpole<br>Anaphasen | Gesamte<br>Aberrationen |
|----------------------------------|----------------------|-----------|-------------------------------------------------|----------|-----------------------|-------------------------|
| Kontrolle<br>(Mittelwerte)       | 87,1                 | 1,7       | 5,7                                             | 5,1      | 0,4                   | 12,9                    |
| MMC<br>30 ng/ml<br>(Mittelwerte) | 18,15                | 26,4      | 35,85                                           | 18,9     | 0,7                   | 81,85                   |
| 3550                             | 71<br>73             | 7<br>4    | 10<br>13                                        | 12<br>10 | 0<br>0                | 29<br>27                |
| 355                              | 79<br>78             | 3<br>3    | 5<br>9                                          | 12<br>10 | 1<br>0                | 21<br>22                |
| 35,5                             | 81<br>82             | 5<br>3    | 8<br>7                                          | 5<br>6   | 1<br>2                | 19<br>18                |
| 3,55                             | 87<br>87             | 0<br>2    | 6<br>7                                          | 7<br>4   | 0<br>0                | 13<br>13                |
| 0,355                            | 86<br>88             | 5<br>2    | 5<br>6                                          | 3<br>4   | 1<br>0                | 14<br>12                |
| 0,0355                           | 88<br>88             | 4<br>1    | 3<br>5                                          | 5<br>6   | 0<br>0                | 12<br>12                |

Tabelle 12

Ermittlung der Anaphaseaberrationen der R1-Zellen (20°C; 48 stündige Inkubationszeit) mit einer Konzentrationsreihe von Metoxuron (88,8;8,88;0,88;0,088;0,0088;0,0009 µg/ml). Angaben in Prozent.

| Konz. in<br>µg/ml                | normale<br>Anaphasen | Fragmente | verzögert auseinander-<br>weichende Chromosomen | Brücken  | mehrpulige<br>Anaphasen | Gesamte<br>Aberrationen |
|----------------------------------|----------------------|-----------|-------------------------------------------------|----------|-------------------------|-------------------------|
| Kontrolle<br>(Mittelwerte)       | 87,1                 | 1,7       | 5,7                                             | 5,1      | 0,4                     | 12,9                    |
| MMC<br>30 ng/ml<br>(Mittelwerte) | 18,15                | 26,4      | 35,85                                           | 18,9     | 0,7                     | 81,85                   |
| 88,8                             | 75<br>75             | 1<br>0    | 6<br>5                                          | 10<br>10 | 8<br>10                 | 25<br>25                |
| 8,88                             | 75<br>76             | 3<br>4    | 8<br>8                                          | 10<br>9  | 4<br>3                  | 25<br>24                |
| 0,88                             | 80<br>78             | 0<br>0    | 6<br>9                                          | 12<br>10 | 2<br>3                  | 20<br>22                |
| 0,088                            | 81<br>83             | 1<br>1    | 6<br>8                                          | 12<br>7  | 0<br>1                  | 19<br>17                |
| 0,0088                           | 87<br>84             | 1<br>1    | 6<br>7                                          | 6<br>7   | 0<br>1                  | 13<br>16                |
| 0,0009                           | 88<br>85             | 0<br>0    | 7<br>8                                          | 5<br>7   | 0<br>0                  | 12<br>15                |

Tabelle 13

Ermittlung der Anaphaseaberrationen der R1-Zellen (20°C; 48 stündige Inkubationszeit) mit einer Konzentrationsreihe von Pentachlorphenol (5700 ; 570; 57; 5,7; 0,57; 0,057 ng/ml). Angaben in Prozent.

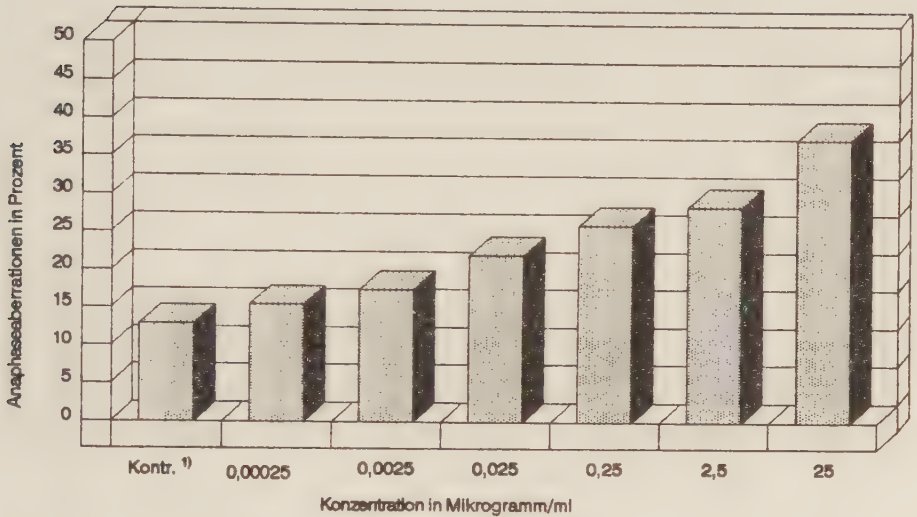
| Konz. in<br>ng/ml                | normale<br>Anaphasen | Fragmente | verzögert aneinander-<br>weichende Chromosomen | Brücken  | mehrpole<br>Anaphasen | Gesamte<br>Aberrationen |
|----------------------------------|----------------------|-----------|------------------------------------------------|----------|-----------------------|-------------------------|
| Kontrolle<br>(Mittelwerte)       | 87,1                 | 1,7       | 5,7                                            | 5,1      | 0,4                   | 12,9                    |
| MMC<br>30 ng/ml<br>(Mittelwerte) | 18,15                | 26,4      | 35,85                                          | 18,9     | 0,7                   | 81,85                   |
| 5700                             | 75<br>78             | 3<br>1    | 10<br>10                                       | 12<br>11 | 0<br>0                | 25<br>22                |
| 570                              | 80<br>79             | 0<br>0    | 9<br>10                                        | 11<br>10 | 0<br>1                | 20<br>21                |
| 57                               | 81<br>82             | 1<br>0    | 5<br>4                                         | 12<br>12 | 1<br>2                | 19<br>18                |
| 5,7                              | 84<br>82             | 1<br>1    | 6<br>7                                         | 9<br>10  | 0<br>0                | 16<br>18                |
| 0,57                             | 87<br>86             | 1<br>0    | 4<br>7                                         | 8<br>7   | 0<br>0                | 13<br>14                |
| 0,057                            | 88<br>86             | 3<br>1    | 2<br>5                                         | 7<br>8   | 0<br>0                | 12<br>14                |

Tabelle 14

Ermittlung der Anaphaseaberrationen der R1-Zellen (20°C; 48 stündige Inkubationszeit) mit einer Konzentrationsreihe von 4-Chloranilin (163,5; 16,35; 1,64; 0,164; 0,016; 0,0016 µg/ml). Angaben in Prozent.

| Konz. in<br>µg/ml                | normale<br>Anaphasen | Fragmente | verzögert auseinander-<br>weichende Chromosomen | Brücken  | mehrpole<br>Anaphasen | Gesamte<br>Aberrationen |
|----------------------------------|----------------------|-----------|-------------------------------------------------|----------|-----------------------|-------------------------|
| Kontrolle<br>(Mittelwerte)       | 87,1                 | 1,7       | 5,7                                             | 5,1      | 0,4                   | 12,9                    |
| MMC<br>30 ng/ml<br>(Mittelwerte) | 18,15                | 26,4      | 35,85                                           | 18,9     | 0,7                   | 81,85                   |
| 163,5                            | 55<br>54             | 4<br>5    | 2<br>3                                          | 13<br>7  | 26<br>31              | 45<br>46                |
| 16,35                            | 75<br>72             | 2<br>3    | 8<br>11                                         | 10<br>8  | 5<br>6                | 25<br>28                |
| 1,64                             | 77<br>76             | 2<br>2    | 10<br>10                                        | 10<br>10 | 1<br>2                | 23<br>24                |
| 0,164                            | 78<br>77             | 2<br>2    | 8<br>6                                          | 11<br>12 | 1<br>3                | 22<br>23                |
| 0,016                            | 83<br>83             | 1<br>1    | 5<br>5                                          | 7<br>8   | 4<br>3                | 17<br>17                |
| 0,0016                           | 86<br>86             | 0<br>1    | 5<br>4                                          | 9<br>8   | 0<br>1                | 14<br>14                |

**Abb.3** Dosis-Wirkungsbeziehung hinsichtlich der Anaphaseaberrationen der R1-Zellen nach 48 stündiger Einwirkung von Atrazin bei 20°C



1) Kontrolle, mit aqua tridest. behandelt

**Abb.4** Verhältnis der Anaphaseaberrationsformen der R1-Zellen nach 48 stündiger Einwirkung von Atrazin (25 Mikrogramm/ml) bei 20°C

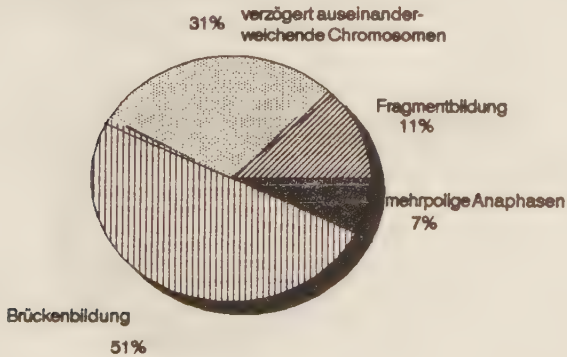
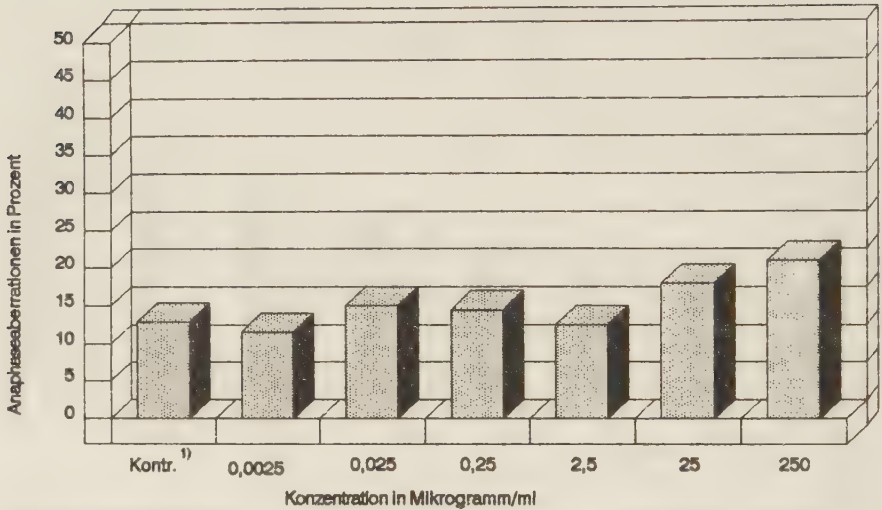
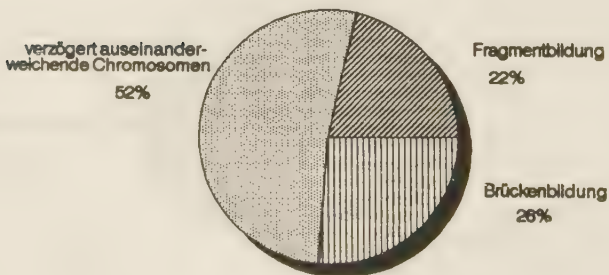


Abb.5 Dosis-Wirkungsbeziehung hinsichtlich der Anaphaseaberrationen der R1-Zellen nach 48 stündiger Einwirkung von 2,4-D bei 20°C

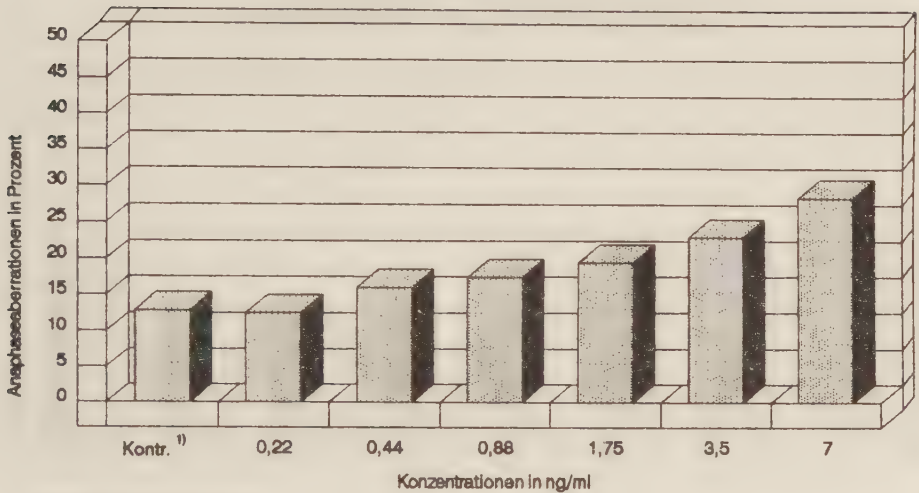


1) Kontrolle, mit aqua tridest. behandelt

Abb.6 Verhältnis der Anaphaseaberrationsformen der R1-Zellen nach 48 stündiger Einwirkung von 2,4-D (250 Mikrogramm/ml) bei 20°C



**Abb.7 Dosis-Wirkungsbeziehung hinsichtlich der Anaphaseaberrationen der R1-Zellen nach 48 stündiger Einwirkung von HCB bei 20°C**



1) Kontrolle, mit aqua bidest. behandelt

**Abb.8 Verhältnis der Anaphaseaberrationsformen der R1-Zellen nach 48 stündiger Einwirkung von HCB (7 ng/ml) bei 20°C**

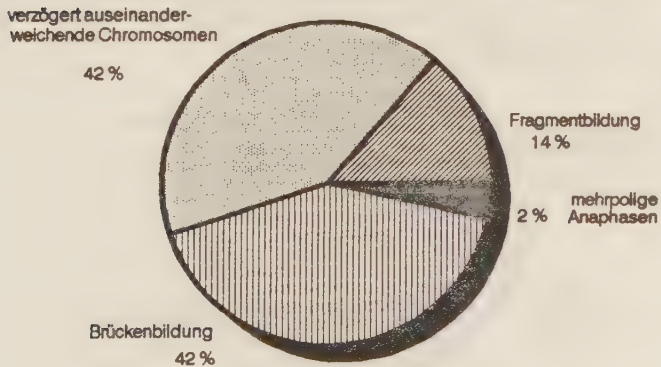


Abb.9 Dosis-Wirkungsbeziehung hinsichtlich der Anaphaseaberrationen der R1-Zellen nach 48 stündiger Einwirkung von Lindan bei 20°C

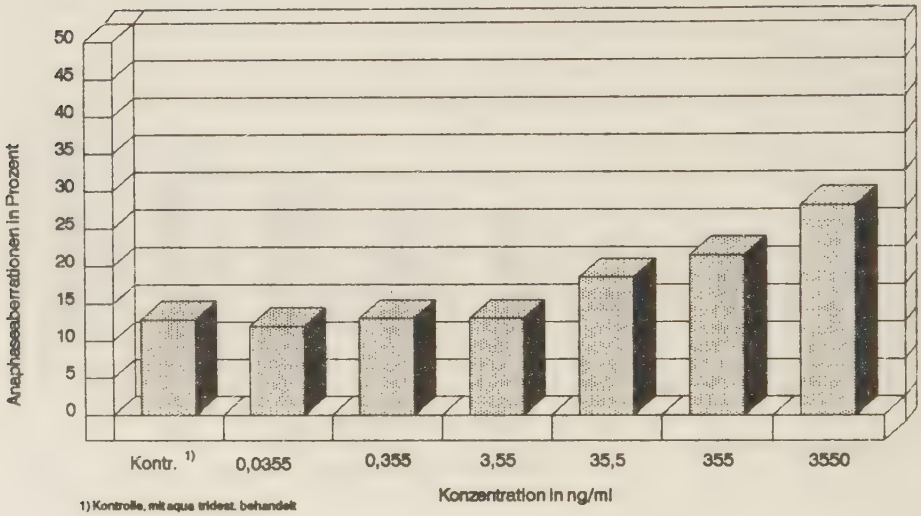


Abb.10 Verhältnis der Anaphaseaberrationsformen der R1-Zellen nach 48 stündiger Einwirkung von Lindan (3,55 Mikrogramm/ml) bei 20°C

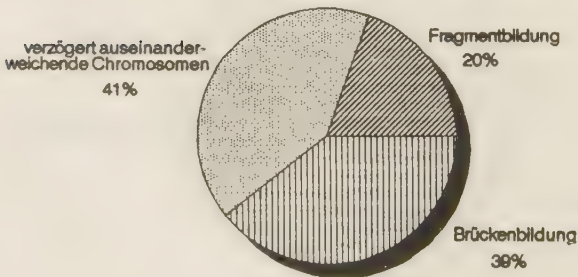
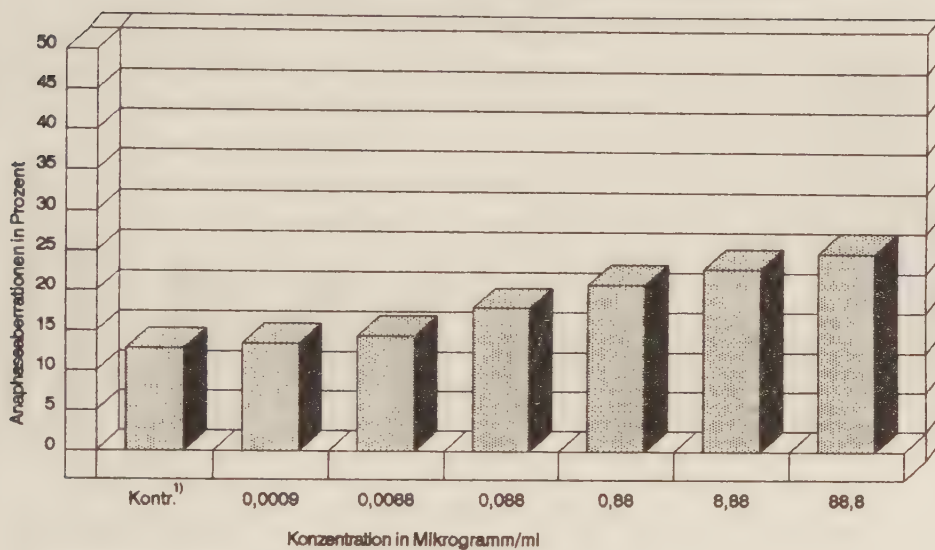


Abb. 11 Dosis-Wirkungsbeziehung hinsichtlich der Anaphaseaberrationen der R1-Zellen nach 48 stündiger Einwirkung von Metoxuron bei 20°C



1) Kontrolle, mit aqua tridest. behandelt

Abb. 12 Verhältnis der Anaphaseaberrationsformen der R1-Zellen nach 48 stündiger Einwirkung von Metoxuron (88,8 Mikrogramm/ml) bei 20°C

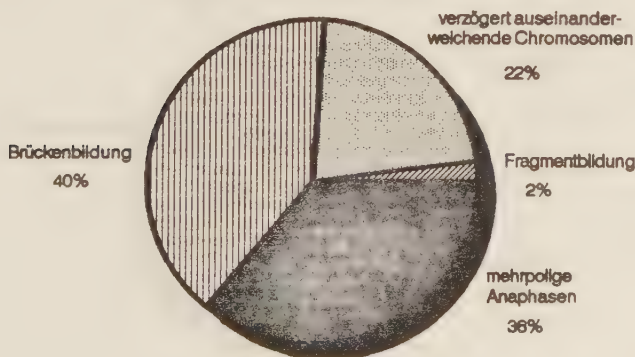
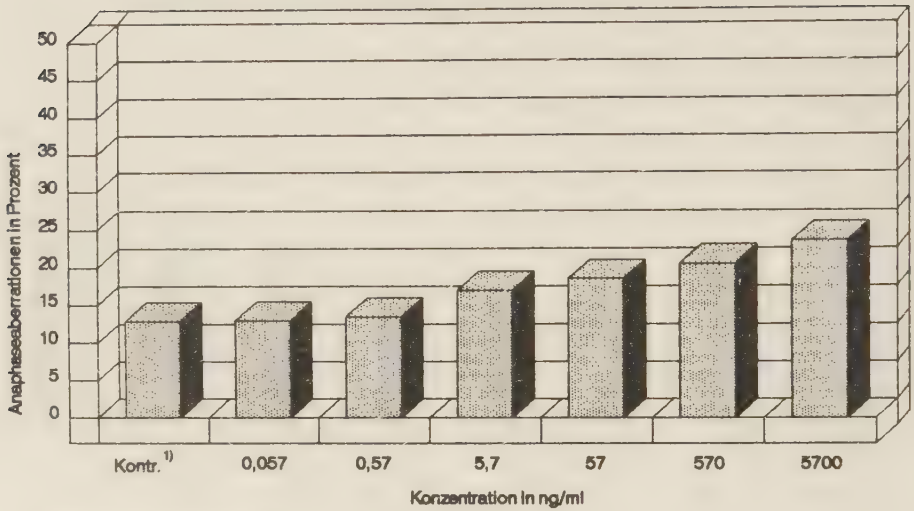
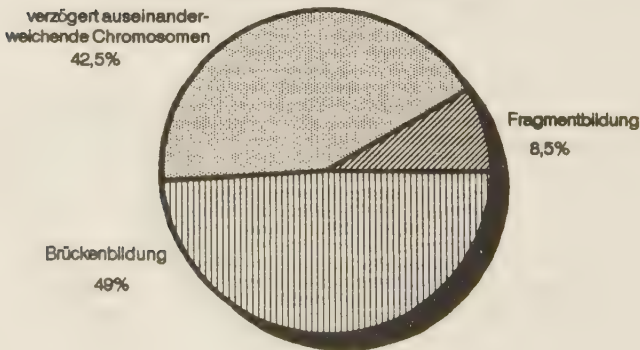


Abb.13 Dosis-Wirkungsbeziehung hinsichtlich der Anaphaseaberrationen der R1-Zellen nach 48 stündiger Einwirkung von PCP bei 20°C

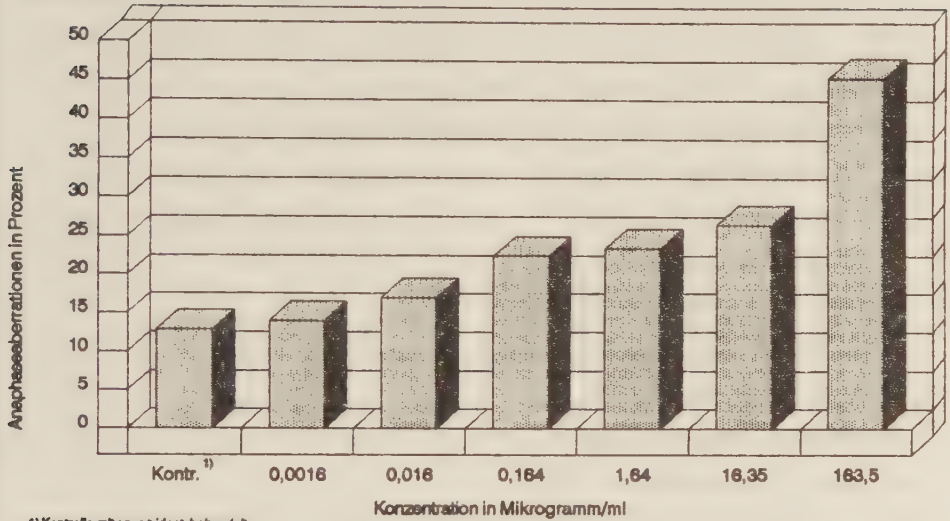


1) Kontrolle, mit aqua tridest. behandelt

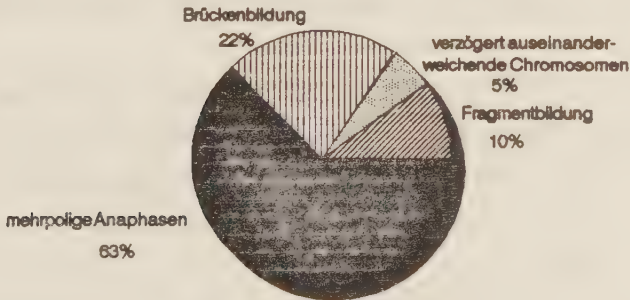
Abb.14 Verhältnis der Anaphaseaberrationsformen der R1-Zellen nach 48 stündiger Einwirkung von PCP (5,7 Mikrogramm/ml) bei 20°C



**Abb.15 Dosis-Wirkungsbeziehung hinsichtlich der Anaphaseaberrationen der R1-Zellen nach 48 stündiger Einwirkung von 4-Chloranilin bei 20°C**



**Abb.16 Verhältnis der Anaphaseaberrationsformen der R1-Zellen nach 48 stündiger Einwirkung von 4-Chloranilin (163,5 Mikrogramm/ml) bei 20°C**



#### 4.6. Vorkommen verschiedener Anaphaseaberrationsformen

Folgende Verteilung der Anaphaseaberrationsformen wurden bei den Kontrollen ermittelt (jeweils Mittelwert aller Kontrollwerte):  
Kontrolle (mit dest. Wasser behandelt):

- a) verzögert auseinanderweichende Chromosomen: 44,2%,
- b) Brückenbildung: 39,5%,
- c) Fragmentbildung: 13,2%,
- d) mehrpolige Anaphasen: 3,1%.

Kontrolle (mit MMC behandelt):

- a) verzögert auseinanderweichende Chromosomen: 43,8%,
- b) Fragmentbildung: 32,2%,
- c) Brückenbildung: 23,1%,
- d) mehrpolige Anaphasen: 0,9%.

Bei den genotoxisch reagierenden Substanzen (Atrazin, 2,4-D, HCB, Lindan, Metoxuron, PCP, 4-Chloranilin) wurden folgende prozentuale Verhältnisse der Anaphaseaberrationsformen bei der jeweils höchsten Konzentrationsstufe ermittelt:

Atrazin (25 Mikrogramm/ml): 51% Brückenbildung, 31% verzögert auseinanderweichende Chromosomen, 12% Fragmentbildung, 7% mehrpolige Anaphasen (Abb.4).

2,4-D (250 Mikrogramm/ml): 52% verzögert auseinanderweichende Chromosomen, 26% Brückenbildung, 22% Fragmentbildung (Abb.6).

HCB (7 ng/ml): 42% Brückenbildung, 42% verzögert auseinanderweichende Chromosomen, 14% Fragmentbildung, 2% mehrpolige Anaphasen (Abb.8).

Lindan (3,55 Mikrogramm/ml): 41% verzögert auseinanderweichende Chromosomen, 39% Brückenbildung, 20% Fragmentbildung (Abb.10).

Metoxuron (88,8 Mikrogramm/ml): 40% Brückenbildung, 36% mehrpolige Anaphasen, 22% verzögert auseinanderweichende Chromosomen, 2% Fragmentbildung (Abb.12).

PCP (5,7 Mikrogramm/ml): 49% Brückenbildung, 42,5% verzögert auseinanderweichende Chromosomen, 8,5% Fragmentbildung (Abb.14).

4-Chloranilin (163,5 Mikrogramm/ml): 63% mehrpolige Anaphasen, 22% Brückenbildung, 10% Fragmentbildung, 5% verzögert auseinanderweichende Chromosomen (Abb.16).

Abb. 17

Erläuterungen auf der folgenden Seite



A



B



C



D



E



F

Abb. 17: Anaphaseaberrationen der R1-Zellen, die nach Einwirkung mutagener Substanzen (48h, 20°C) unterschieden wurden.

- A) Normale Anaphase
- B) Fragmentbildung
- C) Brückenbildung
- D) verzögert auseinanderweichende Chromosomen
- E) mehrpolige Anaphase
- F) multiple Veränderungen: Fragmentbildung und verzögert auseinanderweichende Chromosomen

Vergrößerung 115fach

## 5. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden erstmals Zellen der R1-Zelllinie zur Ermittlung der Genotoxizität von Pestiziden mit Hilfe des Anaphaseaberrationstestes eingesetzt. Daß Fischzellkulturen für derartige Testsysteme geeignet sind, zeigten Kocan et al. (1982) mit Forellengonadenzellkulturen (RTG-2 Zellen). Die Tatsache, daß die Untersuchung mit dem Promutagen Benzo(a)pyrene eine Erhöhung der Aberrationsrate der R1-Zellen zeigte, läßt darauf schließen, daß diese Zellen Substanzen zu metabolisieren in der Lage sind. Die im Vortest verwendeten Konzentrationen von Benzo(a)pyrene und Mitomycin C wurden in Anlehnung an die Versuche von Kocan et al. (1982) eingesetzt, wobei 1; 0,5; 0,1 Mikrogramm/ml Benzo(a)pyrene und 10; 20; 30 ng/ml Mitomycin C getestet wurden. Vergleicht man die vorliegenden Ergebnisse mit denen von Kocan et al. (1982) so ergeben sich weitgehende Übereinstimmungen bei der Ermittlung der Genotoxizität von Benzo(a)pyrene und Mitomycin C mit vorliegenden Resultaten :

Die R1-Zell-Aberrationsrate für Benzo(a)pyrene (0,1 und 0,5 Mikrogramm/ml) liegt nach 24 stündiger Einwirkzeit bei 20-30%, d.h. um ca. 5-10% höher als die RTG-2-Zell-Aberrationsrate. Die 24 stündige Einwirkung von 1 Mikrogramm/ml Benzo(a)pyrene ergab ähnliche Aberrationsraten (26% bei R1-Zellen, ca. 30% bei RTG-2 Zellen). Dagegen zeigten die RTG-2 Zellen bei 48 stündiger Inkubationszeit eine deutlich höhere Aberrationsrate (50% Aberrationsrate bei 0,1 Mikrogramm/ml, 90% Aberrationsrate bei 0,5 Mikrogramm/ml im Gegensatz zu 22,5 % und 26,5% Aberrationsrate bei R1-Zellen). Größtenteils Übereinstimmung besteht bei den Ergebnissen mit Mitomycin C (35,5%, 56% und 65% Aberrationsrate mit Konzentrationen von 10; 20; 30 ng/ml bei 24 stündiger

Behandlungsdauer, 68%, 74,5% und 83,5% mit Konzentrationen von 10; 20; 30 ng/ml bei 48 stündiger Behandlungsdauer.

Der Einsatz von Short-Term-Testen zur Ermittlung des genotoxischen Potentials von chemischen Substanzen wird im allgemeinen als sehr nützlich angesehen (Landolt und Kocan, 1983). Jedoch erfüllt ein Testsystem allein nicht die nötigen Anforderungen, d.h. es ist hierzu eine Serie von Testsystemen nötig. Tierversuche stehen am Ende einer solchen Testserie (Gebhart, 1977). In den letzten Jahren wurden in zunehmendem Maße aquatische Organismen für Mutagenitätstestsysteme verwendet z.B. Wassermolchlarven (Jaylet, 1986 und 1987), Froschlarven (Müllerschön und Miltenburger, 1988), Miesmuscheln (Lehmann, 1984), Fische (Kligerman, 1982; Hooftman und de Raat, 1982; Das und Nanda, 1986; Jaylet, 1986). Die Integrierung des Anaphaseaberrationstestes mit Fischzellkulturen zur Risikoabschätzung des genotoxischen Potentials eines möglicherweise wassergefährdenden Stoffes ist aus tierschützerischen Gründen sinnvoll.

Im Gegensatz zur Präparation von Metaphasen (Kligerman, 1982) ist der Anaphaseaberrationstest einfach in der Ausführung, kostengünstig, mit relativ geringem Aufwand auswertbar und sowohl in vitro als auch in vivo einsetzbar. Die einzige Voraussetzung ist eine möglichst hohe Zellteilungsrate (Landolt und Kocan, 1983).

Es ist bekannt, daß viele Substanzen sowohl mutagen als auch in hohen Konzentrationen zytotoxisch wirken (Gebhart, 1977). Da nach Gebhart (1977) Zellschädigung durch toxische Agentien sekundär zu Schädigung des Erbmateri als führen können, ist eine klare Abgrenzung von toxischer und mutagener Wirkung nötig. Der Zytotoxizitätstest mit den R1-Zellen (Ahne, 1985) diente in vorliegender Arbeit dazu, das zytotoxische Potential der

Testsubstanzen zu ermitteln, um später im Anaphaseaberrationstest im nichttoxischen Bereich arbeiten zu können.

Der Anaphaseaberrationstest mit R1-Zellen ergab für folgende Pflanzenschutzmittel in den untersuchten Konzentrationen keine Genotoxizität: Cyanazin (42,5 Mikrogramm/ml), Dicamba (0,98 mg/ml), Dimethoat (1,56 mg/ml), Linuron (25 Mikrogramm/ml), Metolachlor (26,3 Mikrogramm/ml) und Metribuzin (305 Mikrogramm/ml). Alle anderen Stoffe zeigten genotoxische Reaktionen.

Alachlor reagierte lediglich in der letzten toxischen Konzentrationsstufe (6,25 Mikrogramm/ml) genotoxisch (Aberrationsrate 21%). Carbofuran zeigte im Konzentrationsbereich von 31,3 und 15,7 Mikrogramm/ml eine geringgradige Tendenz zu genotoxischer Wirksamkeit mit einer Aberrationsrate zwischen 16% und 19%. Dagegen erwiesen sich Atrazin (25 Mikrogramm/ml), 2,4-D (0,25 mg/ml), HCB (7 ng/ml), Lindan (3,55 Mikrogramm/ml), Metoxuron (88,8 Mikrogramm/ml), PCP (5,7 Mikrogramm/ml) und 4-Chloranilin (163,5 Mikrogramm/ml) als deutlich genotoxisch.

Mit Alachlor wurde im Test mit CHC-Zellen (Chinese hamster ovary cells) bei Konzentrationen von 10 und 20 Mikrogramm/ml eine Erhöhung der Aberrationsrate von Metaphasechromosomen erzielt (Lin et al., 1987), ebenso bei menschlichen Lymphozyten (4, 10, 20, 40 Mikrogramm/ml), (Georgian et al., 1983) und bei Knochenmarkszellen von Ratten, welche mit Dosen von 1,25 und 2,50 Mikrogramm/g KG behandelt wurden. In vorliegender Untersuchung zeigte Alachlor lediglich in zytotoxischer Konzentration (6,25 Mikrogramm/ml) eine genotoxische Reaktion, nicht aber bei einer Konzentration von 3,13 Mikrogramm/ml. Im Vergleich mit oben genannten Untersuchungen erweist sich die in vorliegender Untersuchung verwendete Konzentration als erheblich niedriger und da bei den oben

genannten Untersuchungen keine Angaben zur Zytotoxizität vorliegen, ist ein direkter Vergleich der Ergebnisse nicht möglich.

Atrazin reagierte nicht genotoxisch im Amestest (Mersch-Sundermann, 1988; Zeiger et al., 1988) zeigte aber im alkaline elution assay bei Ratten, welche in vivo eine Dosis von 350-875 mg/kg KG erhalten hatten, eine genotoxische Reaktion (Pino et al., 1988). Da lebende Organismen ein sehr komplexes Stoffwechselsystem besitzen (Aldridge, 1983), sind die Daten aus oben genannten Untersuchungen nicht mit den Ergebnissen des Anaphaseaberrationstestes mit R1-Zellen (genotoxische Reaktion bei 0,025 Mikrogramm/ml ) vergleichbar.

Bei Carbofuran liegen negative Ergebnisse für die Genotoxizität aus dem Mikronukleustest in vivo mit Knochenmarkszellen von Mäusen (10 mg/kg KG) und aus dem Amestest (Gentile et al., 1982) vor. Lediglich Moriya et al. (1983) berichten von positiven Reaktionen im Amestest (5000 Mikrogramm/Platte). In vorliegender Untersuchung zeigte Carbofuran im Konzentrationsbereich von 15,7 und 31,3 Mikrogramm/ml eine genotoxische Tendenz. Höhere Konzentrationen konnten aufgrund der geringen Löslichkeit in destilliertem Wasser nicht untersucht werden.

Für Cyanazin und Dicamba liegen in der zur Verfügung stehenden Literatur lediglich Ergebnisse aus bakteriellen Testsystemen vor, in welchen keine genotoxische Wirkung erzielt wurde. Verwendete Konzentrationen waren bei Cyanazin 5000 Mikrogramm/Platte (Moriya et al., 1983) und bei Dicamba 5000 Mikrogramm/Platte (Moriya et al., 1983) bzw. 1000 Mikrogramm/Platte (Mersch-Sundermann, 1988). Auch in vorliegender Untersuchung reagierten Cyanazin (42,5 Mikrogramm/ml) und Dicamba (0,98 mg/ml) nicht genotoxisch.

Genotoxische Wirkungen mit 2,4-D wurden im in vivo Test mit Chromosomen des Knochenmarks von Ratten (70 mg/kg KG) erzielt (Adhikari und Grover, 1988) sowie bei Untersuchung des Schwesterchromatidaustausches bei menschlichen Lymphozyten in Kultur (50 Mikrogramm/ml), (Turkula und Jalal, 1985). Seiler (1978) konnte keine Erhöhung der Chromosomenaberrationsrate bei bovinen Nierenzellen und bovinen peripheren Blutzellen (1-1000 Mikrogramm/ml) feststellen. Im Anaphaseaberrationstest mit R1-Zellen erwies sich 2,4-D im Vergleich mit oben genannten Untersuchungen lediglich bei relativ hohen Konzentrationen (250 Mikrogramm/ml) als genotoxisch.

Unterschiedliche Ergebnisse bei der Untersuchung von Dimethoat auf Genotoxizität wurden berichtet. Einerseits zeigten sich positive Reaktionen in vitro z.B. im UDS-Test mit menschlichen Fibroblasten (100 Mikromol), (Ahmed et al., 1977) oder beim Schwesterchromatidaustausch mit Zellen des chinesischen Hamsters (20, 40, 80 Mikrogramm/ml), (Chen et al., 1981), andererseits wurde über negative Reaktionen in in-vivo-Systemen berichtet z.B. im Dominant/Letal-Test mit Mäusen (0,6 Mikrogramm/l Trinkwasser), (Degraeve und Moutschen, 1983) oder im Mikronukleustest mit Knochenmarkszellen von Mäusen (100 mg/kg KG), (Seiler, 1977). In vorliegender Untersuchung erwies sich Dimethoat als nicht genotoxisch (1,56 mg/ml). Die Ursache für die unterschiedliche Reaktion von Dimethoat ist nicht bekannt.

Von Hexachlorbenzol werden überwiegend negative genotoxische Reaktionen berichtet: Amestest, Schwesterchromatidaustausch (Knochenmarkszellen von Mäusen) und alkaline elution assay (DNA von Rattenleber), wobei der Dosisbereich jeweils bei 1000 Mikrogramm/Platte bzw. 1000 Mikrogramm/kg KG lag (Gorski et al., 1986). Lediglich Geopalaswamy und Aiyar (1986) erhielten

genotoxische Reaktionen im Amestest (50 und 100 Mikrogramm/Platte). Leider liegen keine Ergebnisse aus in vitro Untersuchungen (mit Ausnahme von bakteriellen Testsystemen) vor, so daß ein direkter Vergleich der Resultate aus vorliegender Untersuchung (genotoxische Reaktion bei 1,75 ng/ml) nicht möglich ist.

Von Lindan (Mikronukleustest mit Mäusen, 75 mg/kg KG; Jennssen und Ranel, 1980), (UDS-Test mit menschlichen Fibroblastenzellkulturen, 1000 Mikromol; Ahmed et al., 1977),

Linuron (Mikronukleustest mit Mäusen, 900 mg/kg KG; Seiler, 1977),

Metolachlor (Dominant/Letal-Test mit Mäusen, 100 und 300 Mikrogramm/kg KG; Anonym, 1986),

Metoxuron (Mikronukleustest mit Mäusen, bis 2600 mg/kg KG und Untersuchung von Metaphasechromosomen im Knochenmark von Ratten, bis 2000 mg/kg KG; Anonym, 1986),

Metribuzin (Dominant/Letal-Test mit Mäusen, bis 330 mg/kg KG, Anonym, 1986),

werden keine genotoxischen Reaktionen berichtet.

In Übereinstimmung hierzu steht das Ergebnis aus vorliegender Untersuchung für Linuron (25 Mikrogramm/ml), für Metolachlor (26,3 Mikrogramm/ml) und für Metribuzin (305 Mikrogramm/ml). Lindan (355 ng/ml) und Metoxuron (880 ng/ml) erwiesen sich in der vorliegenden Untersuchung als genotoxisch. Leider liegen für Linuron, Metolachlor, Metoxuron und Metribuzin lediglich Ergebnisse aus in vivo Untersuchungen vor (ausgenommen bakterielle Untersuchungssysteme), so daß kein direkter Vergleich der vorliegenden Ergebnisse mit oben genannten Untersuchungen möglich ist. Die Ursache der unterschiedlichen Reaktion von Lindan ist unbekannt.

Pentachlorphenol zeigte eine genotoxische Wirkung im Test mit Saccharomyces cerevisiae und in Lymphozytenzellkulturen von "PCP"-Arbeitern (Anonym, 1987). Die vorliegende Untersuchung zeigt ebenfalls eine genotoxische Wirkung des Pentachlorphenols (0,75 Mikrogramm/ml). Da in oben genannter Untersuchung keine Konzentrationsangaben gemacht werden, ist der Vergleich der Ergebnisse schwer möglich.

4-Chloranilin reagierte im Maus-Lymphoma-Test (19,7 Mikrogramm/ml) genotoxisch (Mitchel et al., 1988; Myr und Caspary, 1988). Keine genotoxische Reaktion zeigte 4-Chloranilin im UDS-Test mit Rattenhepatozyten (50 nmol/ml), (Thompson et al., 1983) und im Amestest (1000 Mikrogramm/Platte), (Rashid et al., 1987). In vorliegender Untersuchung erwies sich 4-Chloranilin als genotoxisch (164 ng/ml). Ursachen für die unterschiedliche Reaktion des 4-Chloranilin sind nicht bekannt.

Untersuchungen zur mutagenen Wirkung der in vorliegender Arbeit verwendeten Chemikalien mit Fischen oder Fischzellkulturen liegen in der zur Verfügung stehenden Literatur nicht vor. Lebende Organismen können die Wirkung einer Substanz durch synergistische und antagonistische Stoffwechselreaktionen speziesunterschiedlich beeinflussen (Aldridge, 1983). Über die Metabolisierung der in dieser Arbeit verwendeten Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel ist bisher wenig bekannt. Für Benzo(a)pyrene ist erwiesen, daß xenobiotische Stoffe im Fischorganismus ähnlich metabolisiert werden wie im Säugetier (Stahl und Kocan, 1986). Luxon et al. (1987) stellten fest, daß bei Fischen aus nachweisbar verschmutzten Gewässern die Aktivität eines Enzymsystems (MFO, mixed function oxygenase), welches am Abbau zahlreicher xenobiotischer Stoffe beteiligt ist, erhöht ist,

so daß dieses Enzymsystem als Indikator für Gewässerverschmutzung angesehen werden kann.

Eine einheitliche genotoxische Reaktion von Pflanzenschutz- und Schädlings-bekämpfungsmitteln einer chemischen Gruppe konnte in der vorliegenden Untersuchung nicht festgestellt werden. Kocan et al. (1982), der verschiedene Substanzen aus der Gruppe der polyzyklischen aromatischen Hydrocarbonderivate testete, kam zu dem Schluß, daß, zumindest bei dieser Substanzgruppe, mutationsauslösende Fähigkeiten auf den chemischen Eigenschaften eines Stoffes beruhen und diese nichts mit dessen chemischer Gruppenzugehörigkeit zu tun haben.

Von den Phenoxyalkancarbonsäuren reagierte 2,4-D genotoxisch, Dicamba aber nicht. Von den Harnstoffverbindungen erwies sich Linuron als nicht genotoxisch, Metoxuron zeigte dagegen eine erhöhte Anaphaseaberrationsrate.

Die Triazinderivate Metribuzin und Cyanazin zeigten keine Genotoxizität, Atrazin hingegen erwies sich als genotoxisch. Die Organochlorverbindungen Lindan und Hexachlorbenzol waren ebenfalls genotoxisch. Von den Aniliden zeigte Alachlor eine geringgradige, Metolachlor keine genotoxische Reaktion. Je nach Verschmutzungsgrad der Gewässer werden z.T. enge Grenzen zwischen den Maximalschadstoffkonzentrationen in den Gewässern und den niedrigsten positiven Wirkungskonzentrationen im Anaphase-aberrationstest deutlich (Tab.15). Eine Aussage über die eventuelle Gefährdung von aquatischen Organismen bzw. aquatischen Ökosystemen läßt ein einzelnes In-Vitro-Testsystem nicht zu, es kann jedoch wertvolle Hinweise auf mögliche mutagene Eigenschaften von Substanzen geben. Wasserinhaltsstoffen sollte in Zukunft nicht nur unter dem Aspekt der akuten Toxizität (z.B. Fischtest nach dem Abwasserabgabengesetz), sondern auch unter

Berücksichtigung chronischer Toxizitäten, Genotoxizitäten usw.  
mehr Aufmerksamkeit geschenkt werden .

Tab. 15  
Vergleich der Konzentrationen der Pflanzenschutz- und  
Schädlingsbekämpfungsmittel mit den genotoxisch wirkenden  
Konzentrationen der verwendeten Substanzen im Anaphase-  
aberrationstest mit R1-Zellen bei 20°C und 48 stündiger  
Behandlungsdauer.

|                                       |                                                                                                      |
|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Maximale Konzentration im<br>Gewässer | niedrigste genotoxisch<br>wirkende Konzentration<br>im Anaphase-<br>aberrationstest mit<br>R1-Zellen |
|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Atrazin:

|                                                                          |                 |
|--------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 1,25 Mikrogramm/l ,Oberflächengew., BRD<br>(Oehmichen und Haberer, 1986) | 25 Mikrogramm/l |
| 0,5 Mikrogramm/l ,Grundwasser, BRD<br>(Baier et al., 1985)               |                 |
| 4800 Mikrogramm/l ,Oberflächengew., USA<br>(Baier et al., 1985)          |                 |
| >10000 Mikrogramm/l, Grundwasser, USA<br>(Baier et al., 1985)            |                 |

2,4-D:

|                                                                |          |
|----------------------------------------------------------------|----------|
| 320 Mikrogramm/l ,Oberflächengew., USA<br>(Baier et al., 1985) | 250 mg/l |
| >10000 Mikrogramm/l ,Brunnen, Kanada<br>(Baier et al., 1985)   |          |

HCB:

|                                                                 |                   |
|-----------------------------------------------------------------|-------------------|
| 0,55 Mikrogramm/l ,Oberflächengew., BRD<br>(Baier et al., 1985) | 1,75 Mikrogramm/l |
| 21,2 Mikrogramm/l ,Oberflächengew., USA<br>(Baier et al., 1985) |                   |
| 0,05 Mikrogramm/l ,Grundwasser, USA<br>(Holden, 1986)           |                   |

Lindan:

|                                                        |                  |
|--------------------------------------------------------|------------------|
| 535 ng/l ,Oberflächengew., BRD<br>(Baier et al., 1985) | 355 Mikrogramm/l |
| 2,9 ng/l ,Grundwasser, BRD<br>(Braun et al., 1987)     |                  |
| 340 ng/l ,Oberflächengew., USA<br>(Baier et al., 1985) |                  |
| 21,1 ng/l ,Brunnen, USA<br>(Baier et al., 1985)        |                  |

Metoxuron:

|                                                 |                  |
|-------------------------------------------------|------------------|
| 680 ng/l ,Oberflächengew., BRD<br>(Stock, 1988) | 880 Mikrogramm/l |
|-------------------------------------------------|------------------|

Fortsetzung der Tabelle auf der folgenden Seite

## Fortsetzung von Tab.15

PCP:

|                                                           |                  |
|-----------------------------------------------------------|------------------|
| 9,8 Mikrogramm/l ,Oberflächengew., BRD<br>(Roßkamp, 1987) | 570 Mikrogramm/l |
| 0,34 Mikrogramm/l ,Grundwasser, USA<br>(Baler, 1985)      |                  |

4-Chloranilin:

|                                                                  |                  |
|------------------------------------------------------------------|------------------|
| 1 Mikrogramm/l ,Oberflächengew., BRD<br>(Rudolf und Boje, 1986)  | 164 Mikrogramm/l |
| 2,2 Mikrogramm/l ,Oberflächengew., NL<br>(Rudolf und Boje, 1986) |                  |

Eine Übertragung der vorliegenden Ergebnisse auf andere aquatische Organismen oder den Menschen ist nicht möglich.

Ziel dieser Arbeit war es auch nicht Risiken abzuschätzen oder Prüfsysteme zu vergleichen, sondern Erkenntnisse über mögliche genotoxische Eigenschaften der untersuchten Substanzen zu gewinnen.

Die genotoxischen Wirkungsmechanismen der in vorliegender Arbeit untersuchten Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel sind bisher unzureichend erforscht. Genotoxische Wirkungen von Substanzen entstehen meist durch die Bindung des Stoffes an die DNA (Gebhart, 1977). Nach Gebhart unterscheidet man 6 Gruppen chemischer Mutagene:

a) Alkylierende Verbindungen:

Alkylantien induzieren elektrophile Carbonium-Ionen, die mit elektronenreichen Strukturen der Zelle reagieren können. Wichtigste Reaktionspartner sind nukleophile Phosphatgruppen der DNA. Hierbei können DNA-Strangbrüche eintreten.

b) Nukleinsäureantimetaboliten:

Es handelt sich um Substanzen, die direkt und indirekt in den Nukleinsäurestoffwechsel eingreifen, z.B. können diese Substanzen anstelle von natürlichen DNA Bausteinen in die DNA eingebaut werden (Basenanaloga) und zu Punktmutationen führen.

c) Substanzen, die Komplexe mit der DNA bilden:

Diese Substanzen werden zwischen zwei benachbarten Basenpaaren der DNA eingeschoben und können zu Frame-Shift-Mutationen führen.

d) Metalle und metallorganische Verbindungen:

Die Wirkungsmechanismen dieser Verbindungen sind wenig untersucht, jedoch zeigen besonders Schwermetalle in verschiedenen Testsystemen genotoxische Wirkung.

e) Nitrofurane:

Nitrofuranverbindungen reagieren direkt mit der DNA und verursachen DNA-Brüche.

f) Alkaloide:

Die mutagene Aktivität beruht auf Alkylierung oder der spindlezerstörenden Wirkung durch Reaktion mit den Mikro-Tubuli des Spindelapparates.

Für die in dieser Untersuchung verwendeten Stoffe ist das Bindungsverhalten an die DNA noch nicht untersucht. Lutz (1979) beschreibt die Messung des Bindungsverhaltens einer Substanz an die DNA als ein Testsystem zur Feststellung der Kanzerogenität einer Substanz.

Bei den Anaphaseaberrationen wurden Fragmentbildung, verzögert auseinanderweichende Chromosomen, Brückenbildung und mehrpolige Anaphasen unterschieden. Hierbei werden verzögert auseinanderweichende Chromosomen als gering zellschädigend angesehen, da beide Tochterzellen vermutlich einen vollständigen Chromosomensatz erhalten (Kocan et al., 1982). Veränderung der

Chromosomenzahl bzw. Verlust von Chromosomenfragmenten verursachen wahrscheinlich den Zelltod (Kocan et al., 1982). Bei den mit Lösungsmittel behandelten Kontrollen zeigen sich Brückenbildung (5,1%) und verzögert auseinanderweichende Chromosomen (5,7%) zu etwa gleichen Teilen, Fragmentbildungen betragen 1,7% und mehrpolige Anaphasen 0,4% (Mittelwerte aller Kontrollen). Die positive Kontrolle (MMC 30 ng/ml) besitzt als häufigste Aberrationsform verzögert auseinanderweichende Chromosomen (37,85%), gefolgt von Fragmentbildung (26,4%), Brückenbildung (18,9%) und mehrpoligen Anaphasen (0,7%). Die genotoxisch reagierenden Substanzen zeigen in vorliegender Arbeit unterschiedliche Verhältnisse der Aberrationsformen zueinander. Bei Atrazin überwiegt die Brückenbildung (51%), verzögert auseinanderweichende Chromosomen betragen 31%, die restlichen Veränderungen liegen bei 18% (11% Fragmentbildung und 7% mehrpolige Anaphasen). HCB zeigt zu gleichen Teilen Brückenbildung und verzögert auseinanderweichende Chromosomen (je 42%), 14% Fragmentbildung und 2% mehrpolige Anaphasen. Bei Lindan besteht das Verhältnis der Aberrationsformen zueinander in 41% verzögert auseinanderweichenden Chromosomen, 39% Brückenbildung und 20% Fragmentbildung. Metoxuron zeigt einen auffallend hohen Anteil an mehrpoligen Anaphasen (36%), neben 40% Brückenbildung, 22% verzögert auseinanderweichender Chromosomen und 2% Fragmentbildung. Der Anteil der verzögert auseinanderweichenden Chromosomen beträgt bei 2,4-D 52%. Die restlichen Aberrationsformen bestehen in Fragmentbildung (21%) und Brückenbildung (26%). Bei 4-Chloranilin liegt ein hoher Anteil an mehrpoligen Anaphasen vor (63%), gefolgt von Brückenbildung (22%), Fragmentbildung (10%) und verzögert auseinanderweichenden Chromosomen (5%). Die Aberrationsformen teilen sich bei PCP zu

etwa gleichen Teilen in Brückenbildung (49%) und verzögert auseinanderweichende Chromosomen (42,5%) auf. Der Anteil der Fragmente beträgt 8,5%. Der hohe Anteil an mehrpoligen Anaphasen bei Metoxuron und 4-Chloranilin spricht für eine Störung der Spindelfunktion durch diese Substanzen. Leider konnte diese Beobachtung in der zur Verfügung stehenden Literatur keine Bestätigung finden.

## 6. Zusammenfassung

R1-Zellen (Forellenleberzellen, Ahne, 1985) wurden in einem Vortest mit zwei bekannten mutagenen Substanzen (Benzo(a)pyrene und Mitomycin C) 24 und 48 Stunden behandelt (20°C), anschließend erfolgte die Bestimmung der Anaphaseaberrationsraten. Je Substanz fanden drei Konzentrationen Verwendung: 10; 20; 30 ng/ml Mitomycin C; 0,1; 0,5; 1 Mikrogramm/ml Benzo(a)pyrene. Beide Substanzen zeigten einen konzentrationsabhängigen und zeitabhängigen Anstieg der Aberrationsrate. Die Untersuchung von 15 Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln ergab für 7 Substanzen eine deutliche Genotoxizität:

Atrazin (25 Mikrogramm/ml), 2,4-D (0,25 mg/ml), Hexachlorbenzol (7 ng/ml), Lindan (3,55 Mikrogramm/ml), Metoxuron (88,8 Mikrogramm/ml), Pentachlorphenol (5,7 Mikrogramm/ml), 4-Chloranilin (163,5 Mikrogramm/ml). Die genotoxisch reagierenden Substanzen zeigten eine deutliche Dosis-Wirkungsbeziehung. Alachlor (6,25 Mikrogramm/ml) reagierte lediglich im zelltoxischen Konzentrationsbereich mit einer erhöhten Aberrationsrate (21%). Carbofuran zeigte eine geringgradige genotoxische Tendenz mit Aberrationsraten zwischen 16% und 19%. Cyanazin (42,5 Mikrogramm/ml), Dicamba (0,49 mg/ml), Dimethoat (1,56 mg/ml), Linuron (25 Mikrogramm/ml), Metolachlor (26,3 Mikrogramm/ml), Metribuzin (305 Mikrogramm/ml) erwiesen sich in den untersuchten Konzentrationen als nicht genotoxisch. Folgende Aberrationsformen wurden unterschieden: Fragmentbildung, verzögert auseinanderweichende Chromosomen, Brückenbildung und mehrpolige Anaphasen.

## Summary

Genotoxicity testing (anaphase aberration test) of some pesticides with fish cell cultures.

R1 cells (rainbow trout liver cells, Ahne, 1985) were cultured for 24h and 48h (20°C) with two known mutagenic substances (Benzo(a)pyrene and Mitomycin C) and then examined for the presence of abnormalities in the anaphase. Three concentrations of each substance were used: 10; 20; 30 ng/ml Mitomycin C; 0,1; 0,5; 1 microgramm/ml Benzo(a)pyrene. Both substances showed a dose- and time dependent increase of anaphase aberrations. The examination of 15 pesticides resulted in a genotoxicity of 7 substances:

Atrazin (25 microgramm/ml), 2,4-D (0,25 mg/ml), Hexachlorbenzol (7 ng/ml), Lindan (3,55 microgramm/ml), Metoxuron (88,8 microgramm/ml), Pentachlorphenol (5,7 microgramm/ml), 4-Chloranilin (163,5 microgramm/ml). The genotoxic reacting substances produced a clear dose-activity relationship.

Alachlor showed a genotoxic reaction only in cytotoxic concentrations (6,25 microgramm/ml) with 21% aberrations.

Carbofuran (31,3 microgramm/ml) was only little genotoxic with 16-19% aberrations.

Cyanazin (42,5 microgramm/ml), Dicamba (0,49 mg/ml), Dimethoat (1,56 mg/ml), Linuron (25 microgramm/ml), Metolachlor (26,3 microgramm/ml), Metribuzin (305 microgramm/ml) did not show any genotoxic reaction.

Four different kinds of aberrations were observed: fragments, lagging chromosomes, bridges and multipolar anaphases.

## 7. Literaturverzeichnis

- Ad Hoc Committee of the Environment Mutagen Society and the  
Institut for Medical Research (1972): Chromosome  
methologies in mutation testing.  
Toxicol.Appl.Pharmacology 22:269-275.
- Adhikari,N., Grover,J.S. (1988): Genotoxic effects of some  
systemic pesticides: In vivo chromosomal aberrations in  
bone marrow cells in rat.  
Environmental and Molecular Mutagenesis 12:235-242.
- Ahmed,F.E., Hart,R.W., Lewis,N.J. (1977): Pesticide induced DNA  
damage and its repair in cultured human cells.  
Mutation Res. 42:161-174.
- Ahne,W. (1985): Untersuchung über die Verwendung von  
Fischzellkulturen für Toxizitätsbestimmungen zur  
Einschränkung und Ersatz des Fischtests.  
Zbl.Bakt.Hyg.,I.Abt.Orig.B 180:480-504.
- Albertini,R.J.,and D.L.Sylwester (1984): 6-thioguanine-resistant  
lymphocytes in human blood.  
In: B.J.Kilbey,M.Legator,W.Nichols and C.Ramed (Eds.):  
Handbook of Mutagenicity Test Procedures,  
Elsevier, Amsterdam: pp 357-372.
- Aldridge,W.N. (1983): The role of biochemical studies in modern  
toxicological assessment of pesticides.  
In: Miyamoto,J., Kearney,P.C. (Eds.): Pesticide  
Chemistry, Vol.3: Mode of action, Metabolism and  
Toxicology.  
Pergamon Press, Oxford : pp 409-418.

- Ames, B.N., J. McCann and E. Yamasaki (1975): Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test.  
Mutation Res. 31: 347-364.
- Anonym (1986): Toxikologie der Herbizide (Datensammlung).  
Arbeitsgruppe Toxikologie der Kommission für  
Pflanzenschutz-, Pflanzenbehandlungs- und Vorrats-  
schutzmittel. Verlag Chemie GmbH, Weinheim, ISSN 0930-4738.  
1.-6. Lieferung .
- Anonym (1987): Umweltchemikalie Pentachlorophenol.  
Forschungsbericht 10604007, UBA-FB 83-009: Berichte 3/87.  
Umweltbundesamt (Hrsg.). Erich Schmidt Verlag, Berlin.
- Babich, H. and Borenfreund E. (1987): Cultured fish cells for the ecotoxicity testing of aquatic pollutants.  
Toxicity Assessment: An International Quarterly Vol. 2:  
119-133.
- Babich, H., Puerner, J.A. und Borenfreund, E. (1986): In vitro cytotoxicity of metals to Bluegill (BF-2) cells.  
Arch. Environ. Contam. Toxicol. 15: 31-37.
- Baier, C., Hurle, K., Kirchhoff, J. (1985): Datensammlung zur Abschätzung des Gefährdungspotentials von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen für Gewässer.  
In: Schriftenreihe des Deutschen Verbandes für  
Wasserwirtschaft und Kulturbau, Parey Verlag, Hamburg,  
Berlin.
- Barker, C.J., Rackham, B.D. (1979) : The induction of sister chromatid exchanges in cultured fish cells (Ameca splendens) by carcinogenic mutagens.  
Mutation Res. 68: 381-387.

- Bateman, A.J. (1984): The dominant lethal assay in the male mouse.  
In: B.J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols and C. Ramel (Eds.):  
Handbook of Mutagenicity Test Procedures, Elsevier,  
Amsterdam: pp 472-483.
- Bols, N.C., Baliska, S.A., Dixon, D.G., Hodson, P.V., Kaiser, K.L.E. (1985):  
The use of fish cell cultures as indication of  
contaminant toxicity to fish.  
Aquatic Toxicology 6:147-155.
- Bradley, M.O., Sina, J.F. (1984): Methods for detecting carcinogens  
and mutagens with the alkaline elution/rat hepatocyte  
assay.  
In: B.J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols and C. Ramel (Eds.):  
Handbook of Mutagenicity Test Procedures, Elsevier,  
Amsterdam: pp 71-82.
- Braun, F., Schüßler, W., Wehrle, R. (1987): Organische Schadstoffe.  
Polychlorbiphenyle (PCB) und Pestizide im Kreislauf des  
Wassers: Bilanzierung und Bewertung. Bayerische  
Landesanstalt für Wasserforschung. Dissertations- und  
Fotodruck Frank, München.
- Brusick, D. (1980): Principles of genetic toxicology.  
Plenum Press, New York: 279.
- Cabral, J., R., P., Shubik, P. (1986): Carcinogenic activity of  
hexachlorbenzene in mice and hamsters.  
IARC Sci. Publ. 77:411-416.
- Chen, H.H., Hsueh, J.L., Sirianni, S.R., Huang, C.C. (1981): Induction  
of sister-chromatid exchanges and cell cycle delay in  
cultured mammalian cells treated with eight organo-  
phosphorus pesticides.  
Mutation Res. 88:307-316.

- Cohen, S., Z., Eiden, C., Lorber M., N. (1986): Monitoring groundwater for pesticides.  
American chemical society, Washington DC.  
ACS Symposium Series 315.
- Connor, T.H. and M.S. Legator (1984): The intraperitoneal host-mediated assay.  
In: B.J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols and C. Ramey (Eds.):  
Handbook of Mutagenicity Test Procedures, Elsevier,  
Amsterdam: pp 643-654.
- Das, R.K., Nanda, N.K. (1986): Induction of micronuclei in peripheral erythrocytes of fish Heteropneustes fossilis by mitomycin C and paper mill effluent.  
Mutation Res. 175:61-71.
- Degraeve, N., Moutschen, J. (1983): Genotoxicity of an organophosphorus insecticide, dimethoate, in the mouse.  
Mutation Res. 119:331-337.
- Dulbecco, R., Vogt, M. (1954): Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses.  
J. exp. Med. 99:67.
- Gebhart Erich (1977): Chemische Mutagenese.  
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.
- Gentile, J.M., Gentile, G.J., Bultman, J., Sederist, R., Wagner, E.D., Plewa, M.J. (1982): An evaluation of the genotoxic properties of insecticides following plant and animal activation.  
Mutation Res. 101:19-29.
- Geopalaswamy, U., V., Aiyar, A., S. (1986): Biotransformation and toxicity of lindane and its metabolite hexachlorobenzene in mammals.  
IARC Sci. Publ. 77:267-276.

- Georgian, L., Moraru, I., Draghicescu, T., Dinu, I., Ghizelea, G.  
(1983): Cytogenetic effects of alachlor and mancozeb.  
Mutation Res. 119:341-348.
- Gorski, T., Gorska, E., Gorecka, D., Sikora, M. (1986):  
Hexachlorbenzene is non-genotoxic in short-term tests.  
IARC Sci. Publ. 77:399-401.
- Green, M.H.L. (1984): Mutagen testing using TRP<sup>+</sup> versions in  
Escherichia coli.  
In: B.J.Kilbey, M.Legator, W.Nichols and C.Ramed (Eds.):  
Handbook of Mutagenicity Test Procedures, Elsevier,  
Amsterdam: pp 161-187.
- Greim, H. (1980): Isolated cell systems as a tool in toxicological  
research.  
Arch. Tox. 44:209-210.
- Hess, F., D. (1982): Mode of action of herbicides that affect cell  
division.  
In: Miyamoto, J., Kearney, P.C.(Eds.): Pesticide Chemistry:  
Human Welfare and the Environment. Vol.3, Pergamon Press,  
Oxford: pp 79-84.
- Holden, P., W. (1986): Pesticides and groundwater quality, issues  
and problems in four states.  
National Academy Press, Washington DC.
- Hollstein, M. and J. McCann (1979): Short-term tests for  
carcinogens and mutagens.  
Mutation Res. 65:133-226.
- Hoofman, R.N. and de Raat, W.K. (1982): Induction of nuclear  
anomalities (micronuclei) in the peripheral blood  
erythrocytes of the Eastern mudminnow Umbra pygmaea by  
ethylmethanesulfonate.  
Mutation Res. 104:147-152.

- Hose, J.E., Hannah, J.B., DiJulio, D., Landolt, M.L., Miller, B.S., Iwaoka, W.T., and Felton, S.B. (1982): Effects of benzo(a)pyrene on early development of flatfish.  
Arch. Environ. Contam. Toxicol. 11: 167-171.
- Jacobs, L. and R. DeMars (1984): Chemical mutagenesis with diploid human fibroblasts.  
In: B.J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols and C. Ramed (Eds.): Handbook of Mutagenicity Test Procedures,  
Elsevier, Amsterdam: pp 321-356.
- Jaylet, A. (1986): A new micronucleus test using peripheral blood erythrocytes of the newt Pleurodeles waltl to detect mutagens in freshwater pollution.  
Mutation Res. 164: 245-257.
- Jaylet, A., Gauthier, C., Fernandez, M. (1987): Detection of mutagenicity in drinking water using a micronucleus test in newt larvae (Pleurodeles waltl).  
Mutagenesis, Vol. 2, No. 3: pp 211-214.
- Jenssen, D. (1984): A quantitative test for mutagenicity in V79 chinese hamster cells.  
In: B.J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols and C. Ramed (Eds.): Handbook of Mutagenicity Test Procedures,  
Elsevier, Amsterdam: pp 269-290.
- Jenssen, D., Ranel, C. (1980): The micronucleus test as a part of a short-term mutagenicity test program for the prediction of carcinogenicity evaluated by 143 agents tested.  
Mutation Res. 75: 191-202.
- Kligerman, A.D. (1982): The use of cytogenetics to study genotoxic agents in fishes.  
In: T.C. Hsu (Ed.): Cytogenetic assays of environmental mutagens. Allanheld, Osmun, Totowa, New Jersey: pp 161-181.

- Kligerman, A.D., Bishop, W.E., Valentine, L.C. (1981): Use of mudminnow, *umbra sp.*, in an in vivo sister chromatid exchange test.
- In: Hoar, K.L. (Ed.): Use of small fish species in carcinogenity testing. National Cancer Institute, Bethesda, Maryland: pp 111-118.
- Kocan, R.M. and D.B. Powell: Anaphase Aberrations (1985): An in vitro test for assessing the genotoxicity of individual chemicals and complex mixtures.
- Short-Term Bioassays in the Analysis of Complex Environmental Mixtures 4: 75-86.
- Kocan, R.M., Landolt, M.L., Bond, J., Benditt, E. P. (1981): In vitro effect of some mutagens/carcinogens on cultured fish cells.
- Arch. Environ. Contam. Toxicol. 10: 663-671.
- Kocan, R.M., K.M. Sabo and M.L. Landolt (1985): Cytotoxicity/genotoxicity: the application of cell culture techniques to the measurement of marine sediment pollution.
- Aquat. Toxicol. 6: 165-177.
- Kocan, R.M., Landolt, and K.M. Sabo (1979): In vitro toxicity of eight mutagens/carcinogens for three cell lines.
- Bull. Environ. Contam. Toxicol. 23: 269-274.
- Kocan, R.M., M.L. Landolt, and K.M. Sabo (1982): Anaphase Aberrations: A measure of genotoxicity in mutagen-treated fish cells.
- Environmental Mutagenesis 4: 181-189.
- Kreijl van, C.F (1980): Mutagenic activity in the rivers Rhine and Meuse in the Netherlands.
- Sci. Total Environ. 15: 137-147.

- Landolt, M.L. and R.M.Kocan (1983): Fish cell cytogenetics:  
A measure of the genotoxic effects of environmental  
pollutants.  
In: J.O.Niagu (Ed.): Aquatic Toxicology, Vol.13:  
335-353.
- Latt, S.A., Schreck, R.R., Loveday, K.S., Schuler, C.F. (1982): Sister  
chromatid exchange analysis: Methodology, applications,  
and interpretation.  
In: Hsu, T.C. (Ed.): Cytogenetic Assays of Environmental  
Mutagens: pp 29-80.
- Lehmann, M. (1984): Bioteste-Stand und Entwicklung: Mutagenitäts-  
testsysteme.  
In: Leschber, R., von Nieding, G. (Hrsg.): Schriftenreihe  
des Vereins für Wasser-, Boden-, Lufthygiene Band 57:  
119-126, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- Liguori, V.M., and M.L.Landolt (1985): Anaphase Aberrations: An in  
vivo measure of genotoxicity.  
Short-Term Bioassays in the Analysis of Complex  
Environmental Mixtures 4:87-97.
- Lin, M.F., Wu, C.L., Wang, T.C. (1987): Pesticide clastogenity in  
Chinese hamster ovary cells.  
Mutation Res. 188:241-250.
- Lutz, W.K. (1979): In vivo covalent binding of organic chemicals to  
DNA as a quantitative indicator in the process of  
chemical carcinogens.  
Mutation Res. 65:289-356.
- Luxon, P.L., Hodson, P.V., Borgman, U. (1987): Hepatic hydrocarbon  
hydroxylase activity of lake trout (Salvelinus namaycush)  
as an indicator of organic pollution.  
Environ. Toxicol. Chem. 6:649-657.

- MacGregor, J.T. and L.E. Sacks (1976): The sporulation system of Bacillus subtilis as the basis of a multigene mutagen screening test.  
Mutation Res. 38:271-286.
- Mano, Y., Mitani H., Etoh H. and Egami N. (1980): Survival and photoreactivability of ultraviolet-irradiated cultured fish cells.  
Radiat. Res. 84:514-522.
- Markus, P.I., Cieciura, S.J., Puck, T.T. (1956): Clonal growth in vitro of epithelial cells from normal human tissues.  
J. exp. Med. 104:615.
- Marshall, T., C., Dorrough, H., W., Swim, H.E. (1976): Screening of pesticides for mutagenic potential using Salmonella typhimurium.  
J. Agric. Food Chem. Vol. 24, No.3 :560-563.
- Mayer, D., Ahne, W., Storch, V. (1988): Cytotoxicity of chemicals to fibroblastic fish cell cultures (R1 cells) investigated by electron microscopy.  
Zeitschr. angew. Zool. 75:147-157.
- Meinert, G., Häfner, M. (1987): Möglichkeiten und Probleme bei der Anwendung von Pflanzenbehandlungsmitteln in Wasserschutzgebieten.  
In: Leschber, R., von Nieding, G. (Hrsg.): Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden-, Lufthygiene Band 68, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart .

- Mersch-Sundermann, V., Dickgiesser, N., Hablitzel, U., Gruber, B.  
(1988): Untersuchung zur Mutagenität organischer Mikro-  
kontamination in der Umwelt. 1. Mitteilung: Die Mutagenität  
ausgewählter Herbizide und Insektizide im Salmonella-  
Mikrosomen-Test (Ames-Test) unter Berücksichtigung der  
pathogenen Potenz kontaminierter Grund- und Trinkwässer.  
Zbl. Bakt. Hyg. B 186:247-260.
- Mitani, H. and Egami N. (1982): Rejoining of DNA strand breaks  
after gamma-irradiation in cultured fish cells.  
Int. J. Radiat. Biol. 41:85-90.
- Mitchell, A.D., Rudolf, C.J., Caspary, W.J. (1988): Evaluation of the  
L5178Y Mouse Lymphoma cell mutagenicity assay: Intra  
laboratory results for sixty-three chemicals tested at  
SRI International.  
Environmental and Molecular Mutagenesis 12,  
Supplement 13:37-101.
- Mohn, G., P. Kerklaan and J. Ellenberger (1984): Methodologies for the  
direct and animal-mediated determination of various  
genetic effects in derivatives of strain 343/113 of  
Escherichia coli K-12.  
In: B.J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols and C. Ramed (Eds.):  
Handbook of Mutagenicity Test Procedures, Elsevier,  
Amsterdam: pp 189-214.
- Moorhead, P.S., P.C. Nowell, W.J. Mellmann, D.M. Battipps,  
D.A. Hungerford 1960: Chromosome preparation of  
leukocytes cultured from human peripheral blood  
Exptl. Cell Res. 20:613-616.

- Morgan, J.F., Morton, H.J., Parker, R.C. (1950): Nutrition of animal cells in tissue culture. I. Initial studies on a synthetic medium.  
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 73:1.
- Moriya, M., Ohta, T., Watanabe, K., Miyazawa, T., Kato, K., Shirasu, Y.  
(1983): Further mutagenicity studies on pesticides in bacterial reversion assay systems.  
Mutation Res. 116:185-216.
- Müllerschön, H., Miltenburger, G. (1988): Der Nachweis von mutagenen Stoffen in Wasserproben mit der Zelllinie V79.  
Vom Wasser 71:195-206.
- Myr, B.C., Caspary, W.J. (1988): Evaluation of the L5178Y Mouse Lymphoma cell mutagenicity assay: Intra laboratory results for sixty-three chemicals tested at Litton Bionetics, Inc..  
Environmental and Molecular Mutagenesis 12,  
Supplement 13:103-194.
- Nichols, W.W., R.C. Miller and C. Bradt (1984): In vitro anaphase and metaphase preparations in mutation testing.  
In: B.J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols and C. Ramed (Eds.):  
Handbook of Mutagenicity Test Procedures,  
Elsevier, Amsterdam: pp 429-439.
- Norman S., Haberer K., Oehmichen U. (1987): Verhalten von stickstoffhaltigen Pflanzenschutzmitteln bei der Trinkwasseraufbereitung.  
Vom Wasser 69:233-249.
- Oehmichen U., Haberer K. (1986): Stickstoffherbizide im Rhein.  
Vom Wasser 66:225-241.

- Oehmichen U., Haberer K. (1988): Dauer- und Stoßbelastung des Rheins mit Pflanzenschutzmitteln.  
Vom Wasser 70:221-232.
- Perkow, Werner (1983/1988): Wirksubstanzen der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel.  
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- Perry, P.E. and E.J. Thomson (1984): The methodology of sister chromatid exchanges.  
In: B.J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols and C. Ramed (Eds.): Handbook of Mutagenicity Test Procedures,  
Elsevier, Amsterdam: pp 495-529.
- Pino, A., Maura, A., Grillo, P. (1988): DNA damage in stomach, kidney, liver and lung of rats treated with atrazine.  
Mutation Res. 209:145-147.
- Quentin, K.E., Grandet, M., Weil, L. (1987): Pestizide und Trinkwasserversorgung.  
In: Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches  
Band 53, ZfGW-Verlag, Frankfurt.
- Rashid, K.A., Arjmand, M., Sandermann, H., Mumma, R.O. (1987):  
Mutagenicity of chloraniline/lignin metabolites in the Salmonella/microsome assay.  
J. Environ. Sci. Health B 22 (6):721-729.
- Reuber, M.D. (1984): Carcinogenicity of Dimethoate. Review Article.  
Environmental Res. 34:193-211.
- Roßkamp, E. (1987): Pentachlorphenol in der Umwelt. In:  
Bericht Umweltbundesamt, Forschungsbericht 10604007:  
Umweltchemikalie PCP: pp 75-96.

- Rudolph, P., Boje, R.: Ökotoxikologie (1986): Grundlagen für die ökotoxikologische Bewertung von Umweltchemikalien nach dem Chemikaliengesetz. ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg, München.
- Russell, L.B. (1984): Procedures and evaluation of results of the mouse spot test.  
In: B.J.Kilbey, M.Legator, W.Nichols and C.Ramed (Eds.): Handbook of Mutagenicity Test Procedures, Elsevier, Amsterdam: pp 393-403.
- Saleh, M.A. (1980): Mutagenic and carcinogenic effects of pesticides.  
J.Environ.Sci.Health B 15 (6):907-927.
- San, R.H.C. and F.H. Stich (1975): DNA repair synthesis of cultured human cells as a rapid bioassay for chemical carcinogens. Int. J. Cancer 16:284-291.
- Schmid, W. (1982): Micronucleus test : An in vivo bone marrow method.  
In: Hsu, T.C. (Ed.): Cytogenetic assays of environmental mutagens. Allanheld, Osmum, Totowa, New Jersey: pp 221-229.
- Searle, A.G. (1984): The specific locus test in the mouse.  
In: B.J.Kilbey, M.Legator, W.Nichols and C.Ramed (Eds.): Handbook of Mutagenicity Test Procedures, Elsevier, Amsterdam: pp 373-391.
- Sega, G.A., J.G. Owens and R.B. Cumming (1976): Studies on DNA repair in early spermatid stages of male mice after in vivo treatment with methyl, ethyl, propyl and isopropyl methanesulfonate.  
Mutation Res. 36:193-212.

- Seiler, J.P. (1977): Nitrosation in vitro and in vivo by sodium nitrite, and mutagenicity of nitrogenous pesticides. *Mutation Res.* 48:225-236.
- Seiler, J.P. (1978): The genotoxicity of phenoxy acids other than 2,4,5-T. *Mutation Res.* 55:197-226.
- Shafik, T.M. (1980): Analytical approaches for determining human exposure to pesticides. *J. Environ. Sci. Health B* 15 (6):1023-1058.
- Shopsis, C. and B. Eng. (1985): Rapid cytotoxicity testing with semi-automated cell protein determination. *Toxicol. Lett.* 26:1-8.
- Siebert, D., Lemperle, E. (1974): Genetic effects of herbicides: Induction of mitotic gene conversion in Saccharomyces cerevisiae. *Mutation Res.* 22:111-120.
- Skopek, T.R., H.L. Liber, J.J. Krolewski and W.G. Thilly (1978): Quantitative forward mutation assay in Salmonella typhimurium using 8-azaguanine resistance as a genetic marker. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 75:410-414.
- Stahl, R.G., Kocan, R.M. (1986): Influence of age on patterns of uptake and excretion of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rainbow trout embryo. *Aquatic Toxicology and Environmental Fate Vol. 9*: 277-286.
- Stammati, A.P., Silano and F. Zucco (1981): Toxicology investigations with cell culture systems. *Toxicology* 20:91-153.

- Sternberg, S.S. (1979): The carcinogenesis, mutagenesis and teratogenesis of insecticides. Review of studies in animal and man.  
Pharmac. Ther. Vol. 6: 147-166.
- Stock, H., D. (1988): Pestizidbelastung von Oberflächengewässern in Nordrhein-Westfalen.  
In: Pestizide im Gewässer, Nr. 2/88, Fachgespräch des Landesamtes für Wasser und Abfall Nordrhein-Westfalen am 3. Feb. 1988 : pp 37-53.
- Stöber, Reupert (1978): Zur Bestimmung von Phenylharnstoff-Herbiziden und Carbamaten in Oberflächengewässern.  
Vom Wasser 51: 273-283.
- Tanooka, H. (1977): Development and application of Bacillus subtilis test systems for mutagens, involving DNA-repair deficiency and suppressible auxotrophic mutations.  
Mutation Res. 42: 19-32.
- Thompson, C.Z., Hill, L.E., Epp, J.K., Probst, G.S. (1983): The induction of bacterial mutation and hepatocyte unscheduled DNA synthesis by monosubstituted anilines.  
Environmental Mutagenesis 5: 803-811.
- Thornton, S.C., Diamond, L., Baird, W.M. (1982): Metabolism of Benzo(a)pyrene by fish cells in culture.  
Journal of Toxicology and Environmental Health 10: 157-167.
- Trenel, J. (1984): Bewertungsschema für wassergefährdende Stoffe und seine Anwendungsmöglichkeit.  
In: Leschber, R., von Nieding, G. (Hrsg.): Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden-, Lufthygiene Band 57: 75-80, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

- Turkula,T.,E., Jalal,S.,M. (1985): Increased rates of sister chromatid exchanges induced by the herbicide 2,4-D. The Journal of Heredity 76:213-214.
- Verschueren,K. (1977): Handbook of environmental chemicals, van Nestrand Reinhold Company, New York.
- Waters,M.D. (1980): An overview of short-term tests for the mutagenic and carcinogenic potential of pesticides. J. Environ. Sci. Health B 15 (6):867-906.
- Wauchope R.D. (1978): The pesticides content of surface water draining from agricultural fields- a review. J. Environ. Qual., Vol.7, no.4: 459-472.
- Wiegand-Rosinus,M., Obst,U., Haberer,K., Wild,A. (1988): Pestizide hemmen die Aldehyddehydrogenase in vitro. Vom Wasser 71:225-226.
- William,A. and Hsu,T.C. (1982): Assays for chromosome aberrations using mammalian cells in culture. In: Hsu,T.C. (Ed.): Cytogenetic assays of environmental mutagens: pp 203-219.
- Williams, G.M. (1977): Detection of chemical carcinogens by unscheduled DNA synthesis in rat liver primary cell cultures. Cancer Res. 37:1845-1851.
- Williams,G.,M. (1982): Organochlorine pesticides and inhibition of intercellular communication as the mechanism for the liver tumor production. In: Miyamoto, J., Kearney,P.C. (Eds.): Pesticide Chemistry: Human Welfare and the Environment. Vol.3, Pergamon Press, Oxford: pp 475-478.

- Wolf, K. and J.A. Mann (1980): Poikilotherm vertebrate cell lines and viruses: a current listing for fishes.  
In *Vitro* 16: 168-179.
- Worthing, C.R. (1987): *The Pesticide Manual*.  
The British Crop Protection Council, Lavenham Press,  
Suffolk. 8. Edition.
- Wyrobek, A.J., G. Watchmaker and L. Gordon (1984): Sperm morphology testing in mice.  
In: B.J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols and C. Ramey (Eds.):  
*Handbook of Mutagenicity Test Procedures*,  
Elsevier, Amsterdam: pp 739-750.
- Zeiger, E., Anderson, B., Haworth, S., Lawlor, T., Mortelmans, K.  
(1988): *Salmonella Mutagenicity Tests 4: Results from the testing of 300 chemicals*.  
*Environmental and Molecular Mutagenesis* 11,  
Supplement 12: 1-158.
- Zeiger, E., Haworth, S., Landor, T., Mortelmans, K., Speck, W. (1983):  
*Salmonella mutagenicity test results for 250 chemicals*.  
*Environmental Mutagenesis*, Supplement 1: 3-142.
- Zetterberg, G., Busk, L., Elovson, R., Starec-Nordenhammer, J.,  
Ryttman, H. (1977): The influence of pH on the effects of  
2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, Na Salt) on  
Saccharomyces cerevisiae and Salmonella typhimurium.  
*Mutation Res.* 42: 3-18.
- Zimmermann, F.K. (1975): Procedures used in the induction of  
mitotic recombination and mutation in the yeast  
Saccharomyces cerevisiae.  
*Mutation Res.* 31: 71-86.

Zimmermann, F.K. (1984): Basic principles and methods of genotoxicity testing in the yeast Saccharomyces cerevisiae.

In: B.J.Kilbey, M.Legator, W.Nichols and C.Ramed (Eds.): Handbook of Mutagenicity Test Procedures, Elsevier, Amsterdam: pp 215-238.

### Danksagung

Danken möchte ich allen Mitarbeitern des Institutes für Zoologie und Hydrobiologie für die Hilfe bei vielen Problemen. Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Dr. habil. W. Ahne für die Überlassung des Themas sowie für die Beratung und Unterstützung während der Anfertigung dieser Arbeit.

Den Mitarbeitern der Bayerischen Landesanstalt für Wasserforschung (BLWF) München danke ich für nützliche Hinweise und Informationen sowie für die Bereitstellung einiger Testsubstanzen.



### Lebenslauf

Name: Ulrike, Hedwig Schweinzer

Eltern: Rudolf und Hedwig Pülhorn, geb. Bickelein

Geboren am 10.04.1963 in Polsingen

Von 1969 - 1972 Besuch der Verbandsschule Heidenheim

Von 1972 - 1982 Besuch des Albrecht-Ernst-Gymnasiums Oettingen

Abitur am 25.06.1982

Vom Wintersemester 1982/83 bis Sommersemester 1987 Studium der

Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München

Eheschließung mit Helmut Schweinzer am 30.8.1986

Staatsexamen am 19.11.1987

Umschreibung auf Promotionsstudium zum Wintersemester 1987/88

Erhalt der Approbation am 08.01.1988













